



$\alpha 9$ 烟碱型乙酰胆碱受体的结构与功能*

郑艺宁 王旭东 刘三玲**

(北京生命科技研究院, 北京 102200)

摘要 烟碱型乙酰胆碱受体 (nicotinic acetylcholine receptor, nAChR) 是五聚体配体门控离子通道 (pentameric ligand-gated ion channels, pLGICs) 超家族成员, 介导中枢与外周神经系统中乙酰胆碱的快速突触传递, 参与神经肌肉接头信号传导、自主神经调控、认知学习、奖赏成瘾和神经可塑性等生理功能。在 nAChR 众多亚型中, $\alpha 9$ 亚基因其独特的进化地位和功能特性而备受关注。 $\alpha 9$ 亚基可形成同源五聚体, 也能与 $\alpha 10$ 亚基形成功能性异源五聚体, 表现出独特的组装策略和药理学特性。与其他 nAChR 亚型不同, 传统烟碱受体激动剂 (如尼古丁) 对 $\alpha 9^*$ nAChR (含 $\alpha 9$ 亚基的受体, 包括 $\alpha 9$ 同源五聚体和 $\alpha 9\alpha 10$ 异源五聚体) 几乎不产生激动作用。 $\alpha 9^*$ nAChR 作为阳离子通道, 对 Ca^{2+} 具有高度通透性。在内耳毛细胞中, 该受体介导内侧橄榄耳蜗束的胆碱能传出调控, 通过 Ca^{2+} 信号实现抑制性反馈, 调控听觉和平衡感知。此外, 近年研究还发现, $\alpha 9^*$ nAChR 在巨噬细胞、角质形成细胞和外周感觉神经元中表达, 可通过非离子型 (代谢型) 信号通路激活胞内级联反应, 参与炎症调节、组织修复和痛觉调控。病理状态下, $\alpha 9^*$ nAChR 功能异常与听觉损伤、老年性耳聋、耳鸣、慢性疼痛和慢性炎症性疾病密切相关。药理学研究揭示了多种靶向配体, 包括小分子化合物和多肽分子均展现出作为镇痛剂的转化潜力。本文系统综述 $\alpha 9^*$ nAChR 的分子结构、表达分布、生理功能、病理关联和靶向配体研究进展, 展望其作为治疗靶点的前景与挑战。

关键词 烟碱型乙酰胆碱受体, 尼古丁, $\alpha 10$, 毛细胞保护, 慢性疼痛, 炎症, 多肽, 药物靶点

中图分类号 Q71, Q42

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0279

CSTR: 32369.14.pibb.20260279

烟碱型乙酰胆碱受体 (nicotinic acetylcholine receptor, nAChR) 属于五聚体配体门控离子通道超家族 (pentameric ligand-gated ion channels, pLGICs), 该超家族成员均含有一个由高度保守的半胱氨酸残基形成的特征性环结构 (Cys-loop), 故又称 Cys-loop 受体。pLGIC 还包括 γ -氨基丁酸 (GABA)、甘氨酸、5-羟色胺 (5-HT, 又称血清素) 等内源性神经递质受体, 在动物界广泛表达, 涵盖无脊椎动物 (如昆虫、蠕虫)、鱼类 (如斑马鱼) 及哺乳动物和人类^[1-2]。pLGIC 是哺乳动物配体门控离子通道中基因成员最多的家族, 其受体广泛表达于中枢与外周神经系统, 参与感觉处理、运动控制、自主神经调节、认知记忆、情绪奖赏、疼痛及睡眠觉醒等多种生理过程^[3]。

nAChRs 是 pLGICs 家族的一个主要分支, 迄今为止, 在脊椎动物中已鉴定出 17 种不同的 nAChR 亚基: $\alpha 1\sim\alpha 10$ 、 $\beta 1\sim\beta 4$ 、 γ 、 δ 和 ϵ 。功能性

nAChR 可分为同源五聚体 (由 5 个相同亚基组成) 与异源五聚体 (由至少两种不同亚基组成)。其组装规则复杂多样, 可能与亚基在长期进化中形成的结构域分化、序列保守性差异及表达分布密切相关。亚基组装的复杂规则及其进化差异性, 构成了脊椎动物 nAChR 亚型多样性的分子基础, 并由此形成了相应的亚型分类体系, 亚型的命名依据最初报道的组织来源与主要功能定位。经典分类将 nAChR 亚型分为神经型 (由 $\alpha 2\sim\alpha 7$ 、 $\beta 2\sim\beta 4$ 亚基组成) 和肌肉型 (由 $\alpha 1$ 、 $\beta 1$ 、 γ 、 δ 、 ϵ 亚基组成)。 $\alpha 9$ 是神经型 nAChR 中一个具有独特药理学特性的亚型, 最早在内耳毛细胞中被发现, 介导耳蜗毛细胞的胆碱能传出神经支配^[4]。 $\alpha 9$ 可独立形成功能

* 北京生命科技研究院有限公司资助 (2023000CC0050, 2025103QPIC01)。

** 通讯联系人。

Tel: 010-50853053, E-mail: liusl@blsa.com.cn

收稿日期: 2026-05-20, 接受日期: 2026-07-16

性同源五聚体, 也能与 $\alpha 10$ 亚基组成异源五聚体。本综述意在介绍 $\alpha 9^*$ nAChR (包括 $\alpha 9$ 同源五聚体和 $\alpha 9\alpha 10$ 异源五聚体) 的亚基组装、分子进化、组织分布、生理病理及药理学研究进展, 以期为该领域的未来研究提供参考。

1 $\alpha 9$ nAChR 的分子结构与进化特征

1.1 蛋白质结构与亚基组装

编码 $\alpha 9$ 亚基的基因是 *CHRNA9* (cholinergic receptor nicotinic alpha 9 subunit, 烟碱型乙酰胆碱受体 $\alpha 9$ 亚基), 该基因翻译后产生由 479 个氨基酸组成的 $\alpha 9$ 亚基 (包含 25 个氨基酸的 N 端信号肽)。不同物种中 $\alpha 9$ 亚基的长度略有差异, 但预测结构显示, 各物种 $\alpha 9$ 亚基具有相似的特征性结构, 且符合 pLGICs 家族的典型结构模式^[1]。从 N 端到 C 端依次为: 一段由约 210 个氨基酸残基组成、以 β 折叠为结构基础的胞外结构域 (extracellular

domain, ECD), 其中含有一对被 15 个残基隔开的保守半胱氨酸残基, 形成特征性的 Cys-loop。紧随 ECD 的是由 4 个跨膜螺旋片段 (M1~M4) 组成的跨膜结构域 (transmembrane domain, TMD), 其中 M2 构成离子孔道的内壁。M3 与 M4 之间为一段较长的胞内序列, 包括几乎与磷脂层平行的螺旋 MX、高度柔性的胞内环 (intracellular loop, 亦称 random loop) 以及 M4 的胞内延伸段螺旋 MA。上述 MX、胞内环与 MA 共同构成受体的胞内结构域 (intracellular domain, ICD), 参与信号调控与蛋白质相互作用。正构位点 (orthosteric site), 即内源性配体乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 的结合位点, 位于 ECD 相邻亚基的界面上 (图 1)。相邻两个亚基分别称为主面 (primary subunit, +) 和互补面 (complementary subunit, -), 其中主面参与配体结合的主要结构包括 loop A、loop B 和 loop C, 互补面主要包括 loop D、loop E 和 loop F。

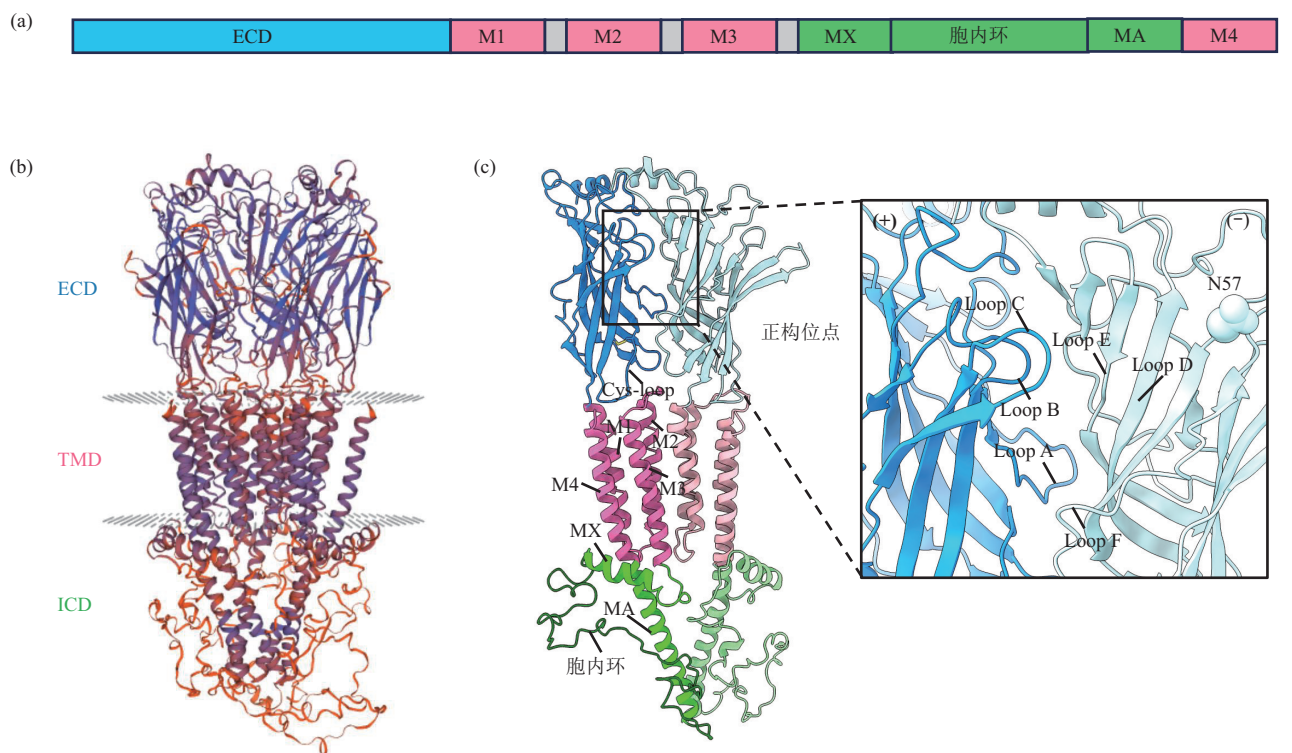


Fig. 1 Predicted structure of $\alpha 9$ nAChR

图1 $\alpha 9$ nAChR 的预测结构

(a) $\alpha 9$ nAChR 从 N 端到 C 端的特征性结构域和基序, 包括胞外结构域 (ECD, 蓝色)、跨膜结构域 (TMD, 粉色) 和胞内结构域 (ICD, 绿色)。(b) 基于 SWISS-MODEL 构建的人源 $\alpha 9$ nAChR (UniProt Q9UGM1) 同源五聚体三维结构模型, 图中标注了受体的特征性结构域组织模式。模型置信度通过 SWISS-MODEL 评估, 并以由蓝到橙的颜色梯度表示置信度由高到低, 模型整体平均置信度为 0.61 ± 0.05 。(c) 相邻两个亚基的结构特征, 重点展示了两个亚基界面的正构位点。图中标示了 Cys-loop、MX、胞内环及 MA 等特征性结构, 以及正构位点附近的糖基化修饰位点 Asn57。

目前, $\alpha 9$ nAChR的ECD结构已得到解析, 研究人员分别解析了其在无配体结合态及3种不同拮抗剂——甲基牛扁亭碱 (methyllycaconitine, MLA)、 α -银环蛇毒素 (α -bungarotoxin, α -Bgtx) 和 α -芋螺毒素 (conotoxin, CTX) RgIA——结合状态下的晶体结构^[5-6] (图2)。 $\alpha 9$ nAChR ECD在晶体中以单体形式存在, 与 $\alpha 7$ 等其他nAChR亚型

类似, 其结构以 $\beta 1 \sim \beta 10$ 共10个 β 折叠为骨架, 形成稳定的结构。配体结合的关键基序位于主面(+)的loop A、loop B和loop C^[7-8], 表明 $\alpha 9$ ECD主面在配体结合中起主导作用。然而, 单体结构仅能展示结合口袋主面与配体的相互作用, 无法呈现互补面(-)的相互作用细节, 而互补面的结构特征恰恰是决定亚型选择性的关键因素之一。

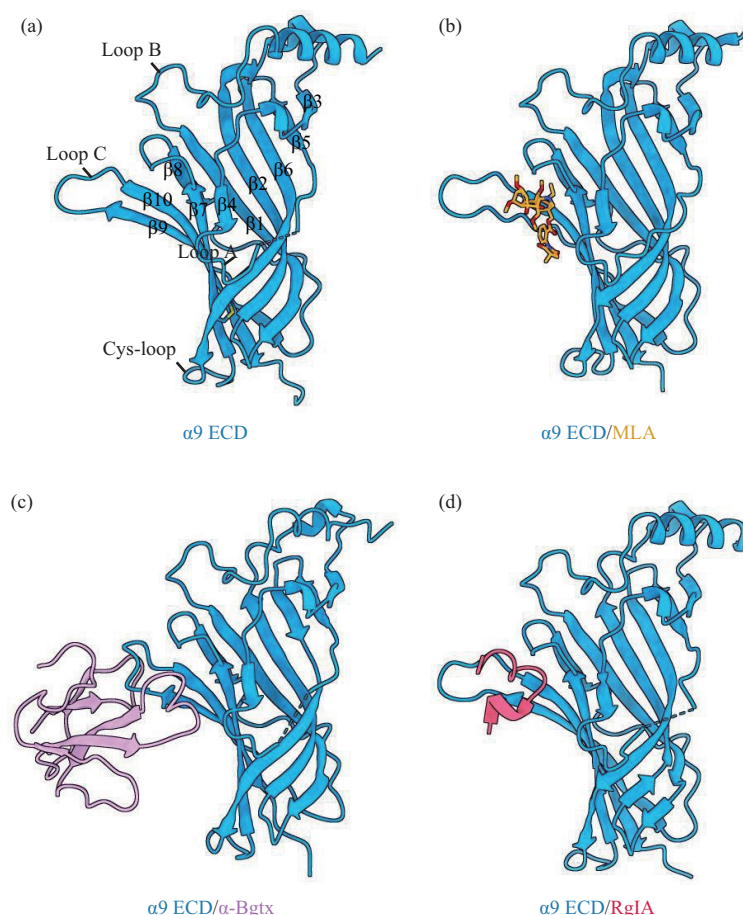


Fig. 2 Crystal structures of $\alpha 9$ nAChR ECD and its complexes with different types of ligands

图2 $\alpha 9$ nAChR胞外域 (ECD) 及其与不同类型配体结合的晶体结构

(a) $\alpha 9$ ECD单体结构 (PDB: 4D01), 标注10个 β 折叠 ($\beta 1 \sim \beta 10$) 和构成正构位点的关键基序, 以及特征性Cys-loop; (b) $\alpha 9$ ECD与小分子拮抗剂MLA的复合物结构 (PDB: 4UXU), 橙色为MLA分子; (c) $\alpha 9$ ECD与肽类拮抗剂 α -Bgtx的复合物结构 (PDB: 4UY2), 紫色为 α -Bgtx, 展示其三指结构 (Finger I/II/III) 与 $\alpha 9$ ECD的相互作用; (d) $\alpha 9$ ECD与选择性肽类拮抗剂RgIA的复合物结构 (PDB: 6HY7), 粉色为RgIA, 展示其与 $\alpha 9$ ECD的特异性结合界面。

根据目前已解析的 $\alpha 7$ nAChR与不同配体的复合物结构, 配体以相似方式结合于正构位点的主面, 但通过与互补面形成不同的相互作用来实现亚型选择性。例如, 尼古丁和 $\alpha 7$ nAChR选择性激动剂EVP-6124均以相似作用结合于 $\alpha 7$ 的主面, 但EVP-6124通过与 $\alpha 7$ 互补面特有的残基 (Ser56和

Gln79) 形成相互作用, 从而获得了对 $\alpha 7$ 的高选择性^[8]。 $\alpha 9$ 在互补面存在与其他nAChR亚型差异显著的氨基酸残基。例如, $\alpha 9$ loop D中的Ala79-Tyr80在 $\alpha 1 \sim \alpha 7$ 及 $\beta 2 \sim \beta 4$ 中均为Thr-Asn, 而loop E中的Asp146-Ala147在 $\alpha 7$ 和 $\beta 2$ 中均为Leu-Pro。这些残基差异不仅改变了互补面的局部电荷分布 (如

Asp146引入的负电荷在 $\alpha 7$ 和 $\beta 2$ 中缺失), 还可能影响互补面的构象。以尼古丁为例, 已解析的 $\alpha 4\beta 2$ /尼古丁和 $\alpha 7$ /尼古丁冷冻电镜结构^[9-10]表明, 互补面 $\beta 2$ 的Leu121和 $\alpha 7$ 的Leu141在空间上紧邻尼古丁的吡啶环, 而 $\alpha 9$ 在相应位置上为Asp146。这一取代可能改变口袋局部的静电环境和空间排布, 影响 $\alpha 9$ 与配体的相互作用模式, 从而奠定了其独特药理学特征的结构基础。 α -Bgtx作为分子质量较大的三指毒素, 其结合涉及更广泛的界面接触; 而RgIA由于分子质量较小, 其选择性更依赖于对 $\alpha 9$ 互补面结构的精确识别。 $\alpha 9$ 互补面的特异性残基可能为RgIA提供了独特的相互作用位点^[6], 使其能够以纳摩尔级亲和力实现亚型选择性抑制, 而对 $\alpha 7$ 等同源亚型的亲和力则低数个数量级^[11]。

糖基化修饰是另一个影响配体选择性的重要因素。不同亚型具有不同的糖基化修饰位点, 有些位点位于正构口袋附近, 如 $\alpha 7$ 的Asn133和 $\alpha 9$ 的Asn57(图1c), 这些位点所处的具体位置不同, 糖链修饰后可能通过空间位阻或静电屏蔽效应对配体分子的结合产生选择性调控。已解析的 $\alpha 9$ ECD晶体结构中由于样品经过了去糖基化处理, 缺少糖基化修饰结构信息^[5-6]。 $\alpha 9$ ECD的糖基化位点分布与 $\alpha 7$ 存在差异, 其糖链的延伸方向可能影响大分子质量多肽的可及性, 而对小分子配体的影响相对较小。但糖链的具体延伸方向及选择性调控机制尚需糖基化状态下的高分辨结构加以验证。这一推测性的“位阻筛选”效应可能在生理条件下进一步增强 $\alpha 9$ 对特定内源性或外源性配体的选择性识别, 提示未来在设计靶向 $\alpha 9$ 的药物时, 还需考虑糖链对配体可及性的调控作用, 尤其是针对多肽类药物, 其设计应规避或利用正构口袋附近的糖基化位点, 优化药物的体内靶向效率。

将 $\alpha 9$ cRNA注射入爪蟾卵母细胞后, 可记录到其对ACh的响应电流, 证实 $\alpha 9$ 亚基可以形成功能性的同源五聚体^[4]。将 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ cRNA共注射入爪蟾卵母细胞后, 检测到了不同于 $\alpha 9$ 同源五聚体的特征电流, 表明 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 可以形成功能性的异源五聚体, 且两者的特征电流存在差异, 暗示二者可能具有不同的门控机制^[12]。 $\alpha 9\alpha 10$ 异源五聚体的峰值电流幅度约为 $\alpha 9$ 同源五聚体的100倍, 且展现出更快更完全的脱敏动力学特征, 并对细胞外 Ca^{2+} 浓度变化呈现双相反应^[13-14]。迄今尚未见其他nAChR亚基与 $\alpha 9$ 或 $\alpha 10$ 形成功能性异源五聚体的报道, 二者的组装具有高度亚基特异性。这一系列研究也为探究nAChR亚基组装机制提供了新方向。

在目前结构已被解析的 $\alpha 4\beta 2$ 和 $\alpha 3\beta 4$ nAChR等异源五聚体中, β 亚基仅作为互补面(-)参与配体结合, 无法作为主面(+), 因此尼古丁等分子只能结合于 $\alpha(+)\beta(-)$ 界面。而 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR中可能存在多种不同的结合界面: $\alpha 9(+)\alpha 9(-)$ 、 $\alpha 9(+)\alpha 10(-)$ 以及 $\alpha 10(+)\alpha 9(-)$, 近期有研究报道 $\alpha 10$ 单独也能形成功能性同源五聚体^[15], 因此亦可能存在 $\alpha 10(+)\alpha 10(-)$ 结合界面。这些界面是不等效的(图3)。 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR在不同组织或同一组织的不同发育阶段可能存在亚基比例差异。研究人员通过功能分析提出了至少两种不同的亚基组装模式, $(\alpha 9)_3(\alpha 10)_2$ 和 $(\alpha 9)_2(\alpha 10)_3$ 。这两种构型对 α -CTX Vc1.1表现出不同的敏感性, 可能与不同作用界面的氨基酸组成和空间构象差异有关^[16]。然而, 由于 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR全长三维结构尚未被解析, 这些不同界面的具体原子水平相互作用机制、亚基比例对通道门控特性的影响, 以及配体选择性的结构基础等关键问题仍有待进一步研究。

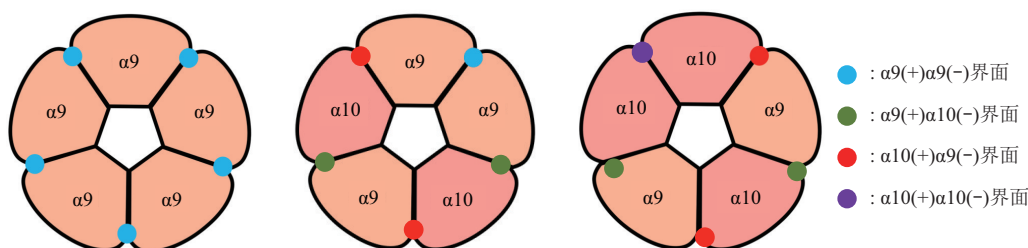


Fig. 3 Assembly patterns and orthosteric site differences of $\alpha 9^*$ nAChR

图3 $\alpha 9^*$ nAChR的不同组装模式与正构位点差异

$\alpha 9$ 可形成同源五聚体, 包含5个等效的正构配体结合位点。 $\alpha 9$ 与 $\alpha 10$ 可共组装形成功能性异源五聚体, 可能存在多种亚基比例模式, 如 $(\alpha 9)_3(\alpha 10)_2$ 和 $(\alpha 9)_2(\alpha 10)_3$ 。异源五聚体中正构结合位点的界面组成因亚基排布不同而存在差异。蓝色、绿色、红色、紫色点分别表示 $\alpha 9(+)\alpha 9(-)$ 、 $\alpha 9(+)\alpha 10(-)$ 、 $\alpha 10(+)\alpha 9(-)$ 以及 $\alpha 10(+)\alpha 10(-)$ 界面的正构位点。

1.2 分子进化与种属差异

研究人员对脊椎动物 nAChR 亚基的序列进行系统评估后, 将 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 亚基划分为一个独立于 α 亚基、非 α 亚基及 $\alpha 7$ 样亚基之外的 $\alpha 9$ 类分支^[17]。 $\alpha 9$ 是 nAChR 家族中一个独立且遥远的成员, 多个研究团队基于无脊椎动物的鉴定结果显示, 两侧对称动物的最近共同祖先中已同时存在神经型、肌肉型亚基与 $\alpha 7$ 样亚基^[17-18]。然而, 目前尚无充分证据表明该祖先中同样存在 $\alpha 9$ 型亚基^[17]。这些发现提示, $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 可能代表了 nAChR 家族中一个功能特化的亚家族, 但其是否源自祖先基因型的古老谱系, 尚需更多序列数据与全面的系统发育分析加以验证。

$\alpha 9\alpha 10$ nAChR 是 nAChR 家族中在进化上最为独特的成员, 其序列保守性显著低于神经型和肌肉

型亚基。在大鼠、鸡和非洲爪蟾中, $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 亚基呈现明显的种属间序列分化 (图4)。这种序列分化直接转化为显著的种属间功能差异: 非洲爪蟾 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 表现出与 $\alpha 7$ nAChR 相似的快速脱敏动力学特征, 而大鼠和鸡的 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 则呈现较慢的脱敏模式。此外, 它们对钙离子的通透性也存在显著差异^[17]。这些发现表明, $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 的进化轨迹与神经型 nAChR (如 $\alpha 4\beta 2$ 和 $\alpha 7$) 形成鲜明对比——后者在动物中表现出高度的功能保守性, 而前者的功能多样性主要由编码序列的适应性改变驱动。 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 呈现出的独特进化模式, 可能与其在内耳毛细胞中执行适应性听觉调控功能有关^[17]。不同物种 (如哺乳动物与鸟类) 的听觉系统对胆碱能传出调控提出了不同的生理需求, 从而驱动了 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 编码序列的适应性进化。

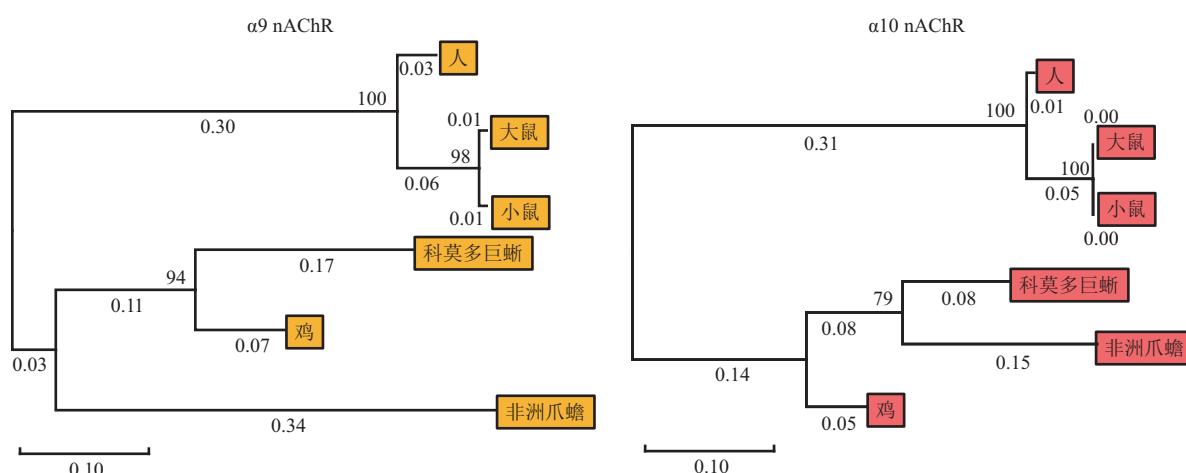


Fig. 4 Species differences in the amino acid sequences of the $\alpha 9$ and $\alpha 10$ subunits

图4 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 亚基氨基酸序列的种属差异

基于人、大鼠、小鼠、科莫多巨蜥、鸡和非洲爪蟾的 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 亚基氨基酸序列, 采用最大似然法 (maximum likelihood) 构建系统发育树。节点处数值为1 000次自举检验的支持率。分支长度代表遗传距离。 $\alpha 9$ 亚基序列来源: 人 (UniProt: Q9UGM1)、大鼠 (UniProt: P43144)、小鼠 (UniProt: G3X8Z7)、科莫多巨蜥 (NCBI RefSeq: XP_044274204.1)、鸡 (UniProt: Q9PTS8)、非洲爪蟾 (NCBI RefSeq: XP_041439752.1)。 $\alpha 10$ 亚基序列来源: 人 (GenBank: AAK14333.1)、大鼠 (GenBank: EDM18210.1)、小鼠 (GenBank: AAI47247.1)、科莫多巨蜥 (NCBI RefSeq: XP_044274535.1)、鸡 (NCBI RefSeq: NP_001094506.2)、非洲爪蟾 (NCBI RefSeq: XP_041440602.1)。

值得注意的是, 进化过程中形成的种属差异对药物开发具有重要影响。尽管大鼠、小鼠和人类的 $\alpha 9$ 亚基整体序列具有高度同源性, 但在配体结合特性的细节上仍存在差异。例如, 某些 α -CTX (如 RgIA) 对大鼠 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 具有纳摩尔级的高亲和力, 但对人源受体的亲和力约降低至原来的1/300^[19]。这种种属差异主要源于配体结合口袋中

少数关键氨基酸残基的不同, 例如人 $\alpha 9$ 亚基的 Ile86 在啮齿类中对应为 Thr, 该残基位于正构位点的互补面, 其替换可能改变结合口袋的静电势, 进而影响 α -CTX 的结合亲和力。这一发现具有两层意义, 一方面, 它揭示了 $\alpha 9$ nAChR 在进化过程中形成的种属差异可直接导致药理学特性的分歧, 使得基于啮齿类受体筛选获得的高亲和力配体在人

源受体上活性显著降低, 为临床前动物实验向临床的转化带来了不确定性。另一方面, 它也提示通过理性药物设计跨越种属差异是可行的。例如, 第二代类似物 RgIA4 通过对 RgIA 序列的优化, 实现了对人和啮齿类 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 的高亲和力, 并展现出对 $\alpha 9\alpha 10$ 亚型的高度选择性 ($>1\ 000$ 倍) 及良好的体内镇痛效果^[20]。上述进化-功能-药理学关联进一步凸显了建立人源化研究体系的必要性: 鉴于 $\alpha 9^*$ nAChR 的进化特殊性, 传统的“啮齿类筛选-人体验证”药物开发模式面临严峻挑战, 在未来药物开发过程中, 利用表达人源受体的细胞系或基因人源化动物模型开展筛选和验证至关重要。

2 $\alpha 9$ nAChR的组织分布与生理功能

$\alpha 9^*$ nAChR 的生理功能与其组织分布密切相关 (表 1)。在耳蜗及前庭毛细胞中, 该受体主要以 $\alpha 9\alpha 10$ 异源五聚体形式介导橄榄耳蜗传出调控与听觉保护。在免疫细胞中, $\alpha 9^*$ nAChR 与 $\alpha 7$ nAChR 共同参与胆碱能抗炎通路 (cholinergic anti-inflammatory pathway, CAP), 调控炎症因子释放。在外周感觉神经、肾上腺髓质及多种上皮组织中, 该受体还参与痛觉调制、应激反应及组织损伤修复等过程。以下按组织系统分述其生理功能与作用机制。

Table 1 Tissue distribution and mediated physiological processes of $\alpha 9^*$ nAChR

表1 $\alpha 9^*$ nAChR的分布及其介导的生理过程

受体	分布	参与的生理过程	参考文献
$\alpha 9\alpha 10$ nAChR	耳蜗毛细胞、前庭毛细胞	减弱耳蜗振动的机电放大效应; 噪声性听力损伤保护	[4, 12, 21-24]
$\alpha 9^*$ nAChR	B淋巴细胞、T淋巴细胞、单核/巨噬细胞和树突状细胞	与 $\alpha 7$ nAChR 共同参与 CAP, 调控免疫炎症因子释放; 促进浆细胞形成和抗体分泌; 参与胸腺细胞发育	[25-29]
$\alpha 9^*$ nAChR	DRG 神经元	可能参与慢性机械性痛觉过敏的维持	[30-33]
$\alpha 9^*$ nAChR	肾上腺髓质	与压力和焦虑感受有关	[34]
$\alpha 9^*$ nAChR	鼻上皮、角质形成细胞、尿路上皮、胎盘、支气管上皮、骨髓	参与多种组织损伤修复; 促进角质形成细胞的迁移和再上皮化; 调控血管生成平衡参与骨细胞稳态调控	[26, 34-37]

2.1 听觉与前庭系统

$\alpha 9\alpha 10$ nAChR 最经典、最特化的表达部位是内耳毛细胞。 $\alpha 9$ 最早于 1994 年通过大鼠 $\alpha 7$ 亚基的 cDNA 探针在低严谨性杂交条件下筛选基因组文库后鉴定, 并通过原位杂交实验证实其主要表达于耳蜗毛细胞^[4]。随后, 研究人员利用 $\alpha 9$ 亚基基因衍生的核苷酸探针在基因库中检索发现 $\alpha 10$ 亚基, 原位杂交实验同样定位其表达于耳蜗毛细胞中^[12]。Vetter 等^[21]发现 $\alpha 10$ 敲除小鼠内毛细胞 (inner hair cell, IHC) 中 ACh 电流完全缺失, 外毛细胞 (outer hair cell, OHC) 仅保留微弱的 $\alpha 9$ 同源受体介导电流, 且橄榄耳蜗传出抑制功能丧失、神经支配形态异常, 表明 $\alpha 10$ 亚基为耳蜗正常传出功能所必需, $\alpha 9$ 同源受体无法代偿 $\alpha 9\alpha 10$ 异源受体的生理作用。Vyas 等^[38]利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术构建了 C 末端携带 HA 标签的 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 敲入小鼠模型, 在无需依赖特异性抗体的情况下实现了对 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 在耳蜗中的精准定位^[38]。在成年小鼠柯蒂氏器 (Corti 器) 中, HA 免疫标记呈点状聚集于 OHC 突触极, 并与突触前传出末梢紧密相邻。听

觉功能成熟前的 IHC 中亦检测到 HA 免疫标记, 但成年小鼠 IHC 中无此标记。 $\alpha 9$ -HA 与 $\alpha 10$ -HA 蛋白标记在空间上共定位, 验证了 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 在毛细胞中形成异源五聚体的推测。

在毛细胞中, $\alpha 9$ 主要以与 $\alpha 10$ 亚基形成异源五聚体的方式行使功能。nAChR 是阳离子选择性配体门控离子通道, 不同亚型对阳离子的通透性存在显著差异, 主要体现在 Ca^{2+} 通透性上。其中 $\alpha 7$ nAChR 对 Ca^{2+} 通透性最强, 而 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 的 Ca^{2+} 通透性在进化上呈现种属差异, 大鼠中 $\alpha 9\alpha 10$ 与 $\alpha 7$ 相当, 而鸡中 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 对 Ca^{2+} 通透性显著降低, 提示哺乳动物可能通过进化获得了独特的 Ca^{2+} 调控特性^[39]。其功能通过配体结合引发 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 开放, Ca^{2+} 内流及后续离子型信号途径来实现。内侧橄榄耳蜗束 (medial olivocochlear, MOC) 经由脑干传入通路调控, 通过释放 ACh 引起 OHC 基底的 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 开放, Ca^{2+} 内流后激活 SK2 钙依赖性钾通道, 驱动更大幅度的 K^{+} 外流, 使毛细胞超极化并抑制电运动^[40]。通过这种双通道胆碱能抑制机制, 耳蜗振动的机电放大效应被

减弱,在特征频率处IHC向I型耳蜗传入纤维传递信号的敏感性显著下降。对小鼠 $\alpha 9$ 、 $\alpha 10$ 基因进行敲除,解剖获得的IHC和OHC在ACh诱导下未见明显电流,且小鼠缺乏MOC对噪声的传出抑制^[21-24]。Wedemeyer等^[41]通过在 $\alpha 9$ 亚基中引入L9'T突变(位于孔道TM2螺旋),延长了 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR开放时间并增加 Ca^{2+} 内流。在内耳中,该突变显著延长了毛细胞诱发的抑制性突触后电流和 Ca^{2+} 信号持续时间。

2.2 免疫细胞

研究人员通过RT-PCR在多种免疫细胞中检测到*CHRNA9*转录本,包括B淋巴细胞、T淋巴细胞、单核/巨噬细胞和树突状细胞^[25-27]。外周 $\alpha 9^*$ nAChR与 $\alpha 7$ nAChR共同参与胆碱能抗炎通路,该通路是由“迷走神经-ACh-nAChR”介导的神经-免疫调节轴,通过抑制促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 、HMGB1等)释放维持免疫稳态^[42]。 $\alpha 9^*$ nAChR可通过NF- κ B通路调控炎症因子分泌,并在肿瘤相关巨噬细胞中参与免疫抑制微环境构建^[43],其与 $\alpha 7$ nAChR形成功能互补的双向调控系统。电生理学结合分子对接研究表明, $\alpha 7$ 选择性配体亦可与 $\alpha 9^*$ nAChR相互作用,抑制单核/巨噬细胞中ATP介导的IL-1 β 和IL-18释放,提示这些配体在CAP中的抗炎效应可能涉及 $\alpha 9^*$ nAChR,拓展了对 $\alpha 7$ 与 $\alpha 9^*$ nAChR在免疫调节中药理学重叠的认知^[44]。值得注意的是,免疫细胞中的 $\alpha 9^*$ nAChR主要通过非离子通道依赖的代谢型信号通路发挥功能^[45],激活该通路所需的ACh浓度远低于触发离子流的阈值^[28]。Zhang等^[25]揭示了从杏仁核-室旁核促肾上腺皮质激素释放激素神经元经脾神经至B细胞 $\alpha 9^*$ nAChR的神经-免疫轴:脾神经释放去甲肾上腺素诱导脾脏内ChAT⁺CD4⁺ T细胞产生ACh,后者与B细胞 $\alpha 9^*$ nAChR结合促进浆细胞形成和抗体分泌。此外, $\alpha 9^*$ nAChR参与胸腺阴性选择调控,其敲除导致T细胞受体(T cell receptor, TCR)库信号强度减弱、细胞凋亡增加,并显著减轻实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)及结肠炎症状^[29]。

2.3 外周感觉神经系统

研究人员在大鼠背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)神经元中发现 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 亚基的转录本,提示 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 的表达可能是DRG神经元的普遍特征^[30]。后续不同研究中 $\alpha 10$ 亚基转录本检测结果较为一致,但 $\alpha 9$ 亚基转录本检测结果差异

较大,部分研究甚至未检测到^[31]。Shiers等^[32]利用RNAscope原位杂交技术对人类和小鼠DRG进行了直接比较,发现人类DRG中可检测到 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 表达,而小鼠DRG中未检测到 $\alpha 9$ 表达,表明 $\alpha 9$ 在DRG中的表达可能具有物种特异性。

$\alpha 9^*$ nAChR在痛觉调控中的角色近年来受到广泛关注,主要源于 α -CTX(如Vc1.1和RgIA)在多种啮齿类疼痛模型中的显著镇痛效果的发现。这些毒素多肽是 $\alpha 9^*$ nAChR的选择性拮抗剂^[46-48],其在神经病理性疼痛和炎性疼痛模型中的镇痛作用为 $\alpha 9^*$ nAChR在痛觉传导中的功能提供了药理学证据。研究发现,在DRG神经元中, $\alpha 9^*$ nAChR主要通过非离子通道依赖的代谢型信号通路发挥调控作用^[30]。 $\alpha 9^*$ nAChR参与了慢性机械性过度痛觉的维持。在神经损伤和炎症条件下,DRG神经元中 $\alpha 9$ 的表达可能发生上调,导致伤害性信号传导通路的敏化^[33]。与此同时,近期研究发现 α -CTX类似物RgIA-5474对奥沙利铂诱导神经病理性疼痛的缓解效应依赖于CD3⁺ T细胞中 $\alpha 9$ 的表达,条件性敲除免疫细胞中的 $\alpha 9$ 可消除其镇痛作用,提示该受体在免疫细胞中可能构成一个独特的非阿片类镇痛靶点^[49]。这种神经元中 $\alpha 9$ 参与痛觉敏化维持与免疫细胞中 $\alpha 9$ 介导镇痛效应的功能差异,为理解该受体的复杂作用机制提供了新视角。

2.4 上皮细胞与其他非神经元部位

$\alpha 9$ nAChR在肾上腺髓质、角质形成细胞、尿路上皮、胎盘及支气管上皮等组织中亦有表达^[26, 34-35]。研究表明,角质形成细胞中的 $\alpha 9$ 受体参与细胞黏附、迁移和分化调控,维持皮肤上皮稳态。 $\alpha 9^*$ nAChR的激活可促进角质形成细胞的迁移和再上皮化,从而加速皮肤创面愈合。这一作用的分子机制涉及 Ca^{2+} 内流激活的下游信号通路,包括黏着斑激酶和小GTP酶的调控^[36]。最新研究发现,ACh可通过 $\alpha 9^*$ nAChR调控角质形成细胞行为并减轻皮肤炎症^[26]。当这一通路被破坏时,炎症症状随之加重,凸显了免疫-上皮细胞通讯在维持皮肤稳态中的重要性。此外, $\alpha 9$ 敲除小鼠在亚慢性束缚应激后表现出应激诱发的觉醒减少和焦虑样行为增加,可能与肾上腺髓质中 $\alpha 9$ nAChR的表达有关^[34]。研究还发现, $\alpha 9$ 亚基敲除小鼠出现骨骼生物力学性能下降、骨微结构破坏、骨合成相关基因表达降低及骨细胞退变死亡等表型,而 $\alpha 10$ 亚基敲除小鼠未出现以上现象,提示 $\alpha 9^*$ nAChR可能参与骨细胞稳态调控,进而影响骨量维持^[37]。

2.5 中枢神经系统

早期 Elgoyhen 等^[4]在大鼠脑中未检测到 $\alpha 9$ 表达。后续虽有报道通过免疫组化技术在仔猪和小鼠脑干延髓和海马体中检测到 $\alpha 9$ 表达^[50-51], 但上述结果尚未被其他实验室独立验证。Lykhmus 等^[52]曾报道在小鼠脑多个区域检测到 $\alpha 9$ 和 $\alpha 10$ 的 mRNA 及蛋白, 并发现二者定位于神经元、星形胶质细胞和脑线粒体中, 但该研究受到 Elgoyhen 等^[53]的质疑, 认为其使用的非商业化抗体可能存在非特异性染色问题, 且缺乏阳性对照等关键质控步骤。结合现有证据, $\alpha 9$ nAChR 在中枢神经系统中的功能性表达仍缺乏确凿证据, 其功能主要局限于外周组织。

3 $\alpha 9$ nAChR 与疾病

3.1 噪声性听力损失

$\alpha 9\alpha 10$ nAChR 在噪声性听力损失中的保护作用已得到广泛验证。MOC 反馈系统通过抑制 OHC 的主动放大作用, 可在高强度噪声暴露时降低基底膜振动幅度, 从而减少对 IHC 和听神经纤维的机械损伤^[23]。表达 $\alpha 9$ L9'T 突变体的小鼠, 其毛细胞中诱发的 Ca^{2+} 信号增加, 对强噪声诱导的永久性听力损失抵抗力显著提升, 但对暂时性阈值偏移无明显影响^[41, 54]。该防护机制与受体脱敏减慢、ACh 对突变受体的激动作用增强相关, 且可能涉及通过代谢型信号通路介导的毛细胞损伤保护, 而非单纯降低耳蜗机械振动。Slika 等^[55]通过 AAV2.7m8 载体将功能增强型 $\alpha 9$ L9'T 突变体导入野生型小鼠耳蜗, 显著增强 MOC 传出神经抑制效应, 减轻噪声暴露后的听力阈值升高, 同时对突触功能起到保护作用。该策略的优势在于耳蜗局部给药可精准递送药物并达到有效浓度, 且由于 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 具有独特的药理学特性和相对受限的表达模式, 系统性副作用风险较低。然而, 鉴于 $\alpha 9\alpha 10$ nAChR 在背根神经节、免疫细胞等耳蜗外组织亦有表达, 仍需评估潜在的脱靶效应, 未来可探索 OHC 特异性启动子以进一步降低非靶细胞转导风险。

3.2 疼痛

在坐骨神经慢性压迫损伤 (chronic constriction injury, CCI) 模型中, $\alpha 9^*$ nAChR 的选择性拮抗剂 RgIA 呈剂量依赖性镇痛效应^[56]。组织学分析显示, RgIA 可抑制 CCI 诱导的轴突致密性下降、轴突直径减小、髓鞘脱失及神经纤维数量减少, 并显著减轻局部组织水肿与炎性浸润, 减少

CD86⁺巨噬细胞浸润。在脊髓背角, RgIA 可抑制 CCI 诱导的小胶质细胞与星形胶质细胞活化^[56]。尽管有研究发现 RgIA 可通过激活 GABA_B 受体抑制大鼠 DRG 中高电压激活的 N 型钙通道电流^[57], 但在脊髓神经元中未观察到 GABA_B 激动剂活性^[58], 提示 RgIA 的外周神经保护、抗炎及减少免疫细胞浸润等效应主要通过 $\alpha 9^*$ nAChR 介导。在 CCI 模型中, $\alpha 9$ 基因敲除小鼠对热刺激和冷异常性疼痛的反应与野生型无差异, 但慢性机械痛觉过敏的强度显著降低。这表明 $\alpha 9^*$ nAChR 主要参与慢性机械痛觉过敏的维持, 而对热痛觉过敏或机械异常性疼痛的影响不明显, 提示其作用具有疼痛模态特异性^[59]。在奥沙利铂诱导的周围神经病变模型中, 每日肌肉注射 RgIA 可使大鼠疼痛阈值回升, 并显著缓解非伤害性刺激诱发的痛觉超敏^[60], 同时减轻 DRG 神经元的病理性形态改变。

在弗氏完全佐剂 (complete Freund's adjuvant, CFA) 诱导的炎性疼痛模型中, $\alpha 9^*$ nAChR 同样参与慢性机械痛觉过敏的维持, 但该模型中其调控主要通过免疫细胞介导^[59]。 $\alpha 9^*$ nAChR 在单核细胞和巨噬细胞中广泛表达, 其激活可通过代谢型信号通路抑制 ATP 诱导的 IL-1 β 释放^[61], 提示 $\alpha 9^*$ nAChR 可能通过免疫细胞中的代谢型信号通路参与炎症调控。

3.3 炎症性疾病

$\alpha 9$ nAChR 在自身免疫性疾病中的作用通过胸腺发育和皮肤免疫研究获得新认识。胸腺发育过程中, CD4⁺CD8⁺双阳性胸腺细胞高表达 $\alpha 9$ nAChR, 该受体通过调控 TCR 信号强度和胸腺细胞存活来控制阴性选择。 $\alpha 9$ 缺陷小鼠表现为 TCR 库改变, CD4⁺和 CD8⁺T 细胞减少, 并伴随自身免疫疾病易感性的改变^[29]。在皮肤免疫中, 皮肤 B 细胞来源的 ACh 通过激活角质形成细胞表面的 $\alpha 9$ nAChR 抑制其增殖并调控局部炎症反应, 维持皮肤稳态。B 细胞特异性缺失 ACh 合成或角质形成细胞 $\alpha 9$ nAChR 敲除均可加重咪喹莫特诱导的炎性皮肤病表型^[26]。上述研究揭示了胆碱能信号通过 $\alpha 9$ nAChR 调控免疫细胞发育和皮肤炎症的双重机制, 为自身免疫性疾病及银屑病等炎性皮肤病的治疗提供了潜在靶点。

3.4 癌症

近年来, $\alpha 9$ nAChR 在肿瘤发生发展中的作用日益受到关注^[62-63]。研究表明, $\alpha 9$ nAChR 在乳腺癌、肺癌及脑胶质瘤等多种恶性肿瘤中表达升高,

且其表达水平与患者不良预后相关^[64-66]。在三阴性乳腺癌中, *CHRNA9* 基因表达上调, $\alpha 9$ nAChR 通过激活 AKT、ERK 和 STAT3 信号通路促进细胞增殖, 并通过调节铁死亡相关通路抑制肿瘤细胞死亡^[64]。此外, $\alpha 9$ nAChR 基因多态性 rs10009228 与吸烟存在交互作用, 携带 A/G 或 A/A 基因型的个体乳腺癌风险增加, 该变异可能导致受体磷酸化增强^[67]。尼古丁可通过激活 $\alpha 9$ nAChR 促进肿瘤血管生成, 涉及 HIF-2 α 和 VEGF-A 等因子的表达调控^[65, 68-69]。脑胶质瘤中 *CHRNA9* 表达升高, 且与 STAT3 通路及免疫检查点表达相关^[66]。靶向 $\alpha 9$ nAChR 的治疗策略正在探索中, 包括多肽拮抗剂 GeXIVA [1, 2]^[64]、双特异性抗体^[65] 以及适配体纳米颗粒递送系统^[70], 这些研究为 $\alpha 9$ nAChR 作为癌症治疗靶点提供了初步依据。

4 $\alpha 9$ nAChR 的配体研究

4.1 激动剂

$\alpha 9^*$ nAChR 的药理学特性在 nAChR 家族中具有独特性, 经典烟碱型受体激动剂 (如尼古丁) 无法诱导该受体产生离子流^[4]。ACh 是 $\alpha 9^*$ nAChR 的内源性激动剂。卡巴胆碱为部分激动剂, 效能低于 ACh。McN-A-343 等毒蕈碱型受体激动剂在 $\alpha 9^*$ nAChR 上表现为弱部分激动剂。胆碱在禽类 $\alpha 9^*$ nAChR 上为完全激动剂, 在哺乳动物受体上仅为部分激动剂, 体现了种属差异^[71]。Papke 等^[72-74] 基于 diEPP (N,N-二乙基-N'-苯基哌嗪) 骨架改造获得一系列衍生物, 包括 $\alpha 9^*$ nAChR 的完全激动剂和部分激动剂等, 并在炎症性疼痛小鼠模型中评估了其镇痛效应。5- (奎宁环-3-基甲基) -1,2,4-噁二唑 (QMO) 系列中, 3S-QMO-28 是目前最强效的 $\alpha 9^*$ nAChR 完全激动剂之一, 其对映体 3R-QMO-28 为部分激动剂。3S-QMO-17 为部分激动剂, 而 3R-QMO-17 表现为拮抗剂^[75]。该系列结构-功能关系表明, 季铵化和噁二唑环 3 位芳基取代基对激动活性至关重要, 手性中心构型影响其功能方向。

4.2 拮抗剂

$\alpha 9^*$ nAChR 对 Cys-loop 家族其他受体的配体具有交叉敏感性。土的宁 (甘氨酸受体拮抗剂) 和荷包牡丹碱 (GABA_A 受体拮抗剂) 均为 $\alpha 9^*$ nAChR 的强效拮抗剂^[76]。 $\alpha 7$ 选择性拮抗剂 MLA 对 $\alpha 9^*$ nAChR 也有拮抗作用, 但选择性较低^[77]。5-HT₃ 受体拮抗剂 (托烷司琼、昂丹司琼、贝美司琼) 同

样具有 $\alpha 9^*$ nAChR 拮抗活性^[5]。某些氨基糖苷类抗生素 (新霉素、庆大霉素) 可通过非竞争性机制阻断 $\alpha 9^*$ nAChR, 可能与其耳毒性相关^[78]。多价季铵盐 (双、三、四氮杂芳环化合物) 对 $\alpha 9^*$ nAChR 具有纳摩尔级抑制活性, 在炎性和神经病理性疼痛模型中表现出镇痛效果^[79]。此外, 某些化合物可通过别构机制抑制 $\alpha 9^*$ nAChR^[80] 或者对 $\alpha 9^*$ nAChR 呈现出浓度依赖性的双重激动/拮抗活性^[81]。

目前发现的作用于 $\alpha 9^*$ nAChR 的 α -CTX 均为其拮抗剂, RgIA 是大鼠 $\alpha 9^*$ nAChR 的强效拮抗剂, 选择性较其他 nAChR 亚型高 1 000 倍以上, 但对人源受体亲和力显著降低^[19]。经关键残基改造获得的 RgIA4 对人源 $\alpha 9^*$ nAChR 保持高亲和力, 且对其他 nAChR 亚型、GABA_B 受体和离子通道无显著交叉反应, 在化疗诱导的神经病理性疼痛模型中表现优异^[20]。环化 RgIA4 衍生物^[82] 和二硫键替换类似物^[83] 在保持高亲和力的同时显著提高了血清稳定性。Vc1.1 曾进入 II 期临床试验, 但因人源受体亲和力不足而终止。GeXIVA 是另一种高选择性 $\alpha 9^*$ nAChR 拮抗剂, 其二硫键连接模式影响活性, 在 CCI 模型中减轻机械痛觉过敏^[84]。

4.3 正向别构调节剂

与 $\alpha 7$ nAChR 相比, $\alpha 9^*$ nAChR 的正向别构调节剂 (positive allosteric modulator, PAM) 研究较少。兰尼碱 (ryanodine) 可增强 $\alpha 9^*$ nAChR 对 ACh 的响应, 但有效浓度高且主要作用于 ryanodine 受体 (RyR), 应用受限^[85]。L-抗坏血酸 (维生素 C) 是迄今发现的第二个 $\alpha 9^*$ nAChR PAM, 属典型 I 型 PAM, 可增强 ACh 最大反应电流但不改变 EC_{50} 或脱敏动力学^[86]。仅还原型 L-抗坏血酸有效, 其氧化产物脱氢抗坏血酸 (dehydroascorbic acid, DHA) 及 D-异抗坏血酸无增强作用。在耳蜗等局部微环境中, 抗坏血酸可达毫摩尔浓度, 其噪声性听力损失保护作用可能部分源于对 $\alpha 9^*$ nAChR 的正向调节。尽管作为药理学工具的应用受限, 抗坏血酸为 $\alpha 9^*$ nAChR 选择性 PAM 的结构设计提供了概念验证。

5 总结与展望

$\alpha 9^*$ nAChR 与 $\alpha 7$ nAChR 均为兼具离子型与代谢型信号特性的 nAChR 亚型。自 $\alpha 9$ 亚基首次被克隆以来, 科研人员已围绕其亚基组装、分子进化、组织分布、生理功能及疾病关联建立起较为系统的

认知体系。近年来, 得益于 nAChR 辅助蛋白的发现和单颗粒冷冻电镜技术的快速发展, nAChR 家族多种亚型的高分辨率结构及 $\alpha 7$ nAChR 等受体的构象动态转变过程相继被解析^[10, 87-89], 这些进展为深入理解 $\alpha 9^*$ nAChR 的结构-功能关系提供了重要参照。

在组装策略上, $\alpha 9$ 可形成同源五聚体, 也可与 $\alpha 10$ 组装形成功能性异源五聚体, 且两者的组装具有高度亚基特异性。在功能层面, $\alpha 9^*$ nAChR 的功能已从最初发现的介导内耳橄榄耳蜗束胆碱能传出抑制, 拓展至痛觉调控、免疫稳态维持、组织修复及骨代谢调控等多个生理过程, 呈现出“同一受体、不同信号模式”的功能多样性。具体而言, 在耳蜗毛细胞中, 该受体主要以 $\alpha 9\alpha 10$ 异源五聚体形式介导 Ca^{2+} 内流, 进而激活 SK2 通道引起膜超极化的经典离子型通路实现快速抑制性反馈。而在免疫细胞、角质形成细胞及外周感觉神经元中, $\alpha 9^*$ nAChR 则主要借助代谢型信号通路发挥缓慢而持久的调控效应。病理状态下, $\alpha 9^*$ nAChR 功能异常参与噪声性听力损失、慢性疼痛、自身免疫性疾病及炎症性皮肤病等多种疾病的病理进程, 使其成为具有重要转化潜力的治疗靶点。

尽管已取得显著进展, $\alpha 9^*$ nAChR 研究领域仍面临多重关键挑战。其一, 现有结构信息难以支撑机制阐释。尽管 $\alpha 9$ ECD 单体与多种配体的复合物晶体结构已获得解析, 但全长受体的高分辨率三维结构及不同功能状态下的构象动态信息仍然缺失, 这严重制约了对亚基组装规则、配体选择性识别机制及门控动力学分子基础的理解。未来需结合冷冻电镜与分子动力学模拟等手段, 解析 $\alpha 9^*$ nAChR 与激动剂、拮抗剂及变构调节剂的复合物结构, 阐明其构象变化与功能调控的精确关系, 并揭示不同 $\alpha 9/\alpha 10$ 亚基化学计量比对通道特性的影响。其二, 种属差异阻碍临床前向临床转化。 $\alpha 9^*$ nAChR 在进化上表现出该家族中最低的序列保守性, 导致啮齿类与人类受体在配体结合和脱敏动力学等方面存在显著差异。其中配体结合口袋的关键氨基酸替换导致两者药理学特性出现明显分歧, 致使基于啮齿类受体筛选获得的高亲和力配体在人源受体上活性显著降低, 为临床前动物实验向临床转化带来了不确定性。建立基于人源受体的高通量筛选体系及人源化动物模型, 并发展能够跨越种属差异的理性药物设计策略, 是实现临床前向临床成功转化的必要前提。其三, 信号转导机制的复杂性增加了药物设计

的难度。代谢型信号通路的分子机制——包括下游效应器、信号级联网络及其与离子型信号的交互调控——尚处于初步探索阶段, 这一领域的深入探索或将拓展我们对传统配体门控离子通道功能多样性的认知边界。此外, 同一配体在不同组织微环境中可能通过离子型或代谢型通路产生截然不同的生物学效应, 这要求未来药物设计在亚型选择性的基础上, 进一步开发具有信号通路偏向性的配体, 以实现组织特异性的精准治疗。其四, 成药性评估与精准靶向面临组织分布广泛性的制约。 $\alpha 9^*$ nAChR 在耳蜗毛细胞、背根神经节、免疫细胞、角质形成细胞及多种肿瘤细胞中表达, 这种泛组织分布增加了系统性给药时的脱靶效应风险。例如, $\alpha 9^*$ nAChR 拮抗剂在缓解慢性疼痛时, 可能同时干扰内耳橄榄耳蜗束的传出调控功能。此外, 不同组织中 $\alpha 9^*$ nAChR 的功能异质性尚未被充分解析, 加之缺乏能够精确区分不同组织微环境中受体功能状态的生物标志物, 导致获益-风险评估困难。

$\alpha 9^*$ nAChR 靶向药物的开发正迎来结构生物学与转化医学深度融合的新机遇。全长受体结构的解析为药物设计提供精确模板、代谢型信号网络分子机制的深入阐明为功能预测提供约束条件, 以及人工智能辅助药物设计加速知识整合与先导化合物优化, 依托“结构解析-机制阐释-临床转化”的研发策略, 有望推动靶向 $\alpha 9^*$ nAChR 的高选择性先导分子进入临床开发阶段, 这类分子应具备良好的安全性和组织偏向性调控能力, 为慢性疼痛、噪声性听力损失、自身免疫性疾病和炎症性皮肤病的潜在治疗开辟新的途径。同时, $\alpha 9^*$ nAChR 作为理解配体门控离子通道信号多态性的理想模型, 其研究也将为整个 pLGICs 家族的功能多样性及进化适应机制提供更为深刻的理论洞见。

参 考 文 献

- [1] Corringer P J, Poitevin F, Prevost M S, *et al.* Structure and pharmacology of pentameric receptor channels: from bacteria to brain. *Structure*, 2012, **20**(6): 941-956
- [2] Jaiteh M, Taly A, Hénin J. Evolution of pentameric ligand-gated ion channels: pro-loop receptors. *PLoS One*, 2016, **11**(3): e0151934
- [3] Matta J A, Gu S, Davini W B, *et al.* Nicotinic acetylcholine receptor redux: discovery of accessories opens therapeutic vistas. *Science*, 2021, **373**(6556): eabg6539
- [4] Elgoyhen A B, Johnson D S, Boulter J, *et al.* Alpha 9: an acetylcholine receptor with novel pharmacological properties expressed in rat cochlear hair cells. *Cell*, 1994, **79**(4): 705-715

- [5] Zouridakis M, Giastas P, Zarkadas E, *et al.* Crystal structures of free and antagonist-bound states of human $\alpha 9$ nicotinic receptor extracellular domain. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, **21**(11): 976-980
- [6] Zouridakis M, Papakyriakou A, Ivanov I A, *et al.* Crystal structure of the monomeric extracellular domain of $\alpha 9$ nicotinic receptor subunit in complex with α -conotoxin RgIA: molecular dynamics insights into RgIA binding to $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic receptors. *Front Pharmacol*, 2019, **10**: 474
- [7] Novielli C M, Gharpure A, Mukhtasimova N, *et al.* Structure and gating mechanism of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *Cell*, 2021, **184**(8): 2121-2134.e13
- [8] Zhao Y, Liu S, Zhou Y, *et al.* Structural basis of human $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor activation. *Cell Res*, 2021, **31**(6): 713-716
- [9] Walsh R M, Roh S H, Gharpure A, *et al.* Structural principles of distinct assemblies of the human $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptor. *Nature*, 2018, **557**(7704): 261-265
- [10] Liu S, Chen H, Zhu X, *et al.* Structural insights into the progressive recovery of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor from nicotine-induced desensitization. *Sci Adv*, 2025, **11**(41): eadx4432
- [11] Vincler M, Wittenauer S, Parker R, *et al.* Molecular mechanism for analgesia involving specific antagonism of $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(47): 17880-17884
- [12] Elgoyhen A B, Vetter D E, Katz E, *et al.* $\alpha 10$: a determinant of nicotinic cholinergic receptor function in mammalian vestibular and cochlear mechanosensory hair cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(6): 3501-3506
- [13] Weisstaub N, Vetter D E, Elgoyhen A B, *et al.* The $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptor is permeable to and is modulated by divalent cations. *Hear Res*, 2002, **167**(1/2): 122-135
- [14] Gallino S L, Agüero L, Boffi J C, *et al.* Key role of the TM2-TM3 loop in calcium potentiation of the $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptor. *Cell Mol Life Sci*, 2024, **81**(1): 337
- [15] Tekarli B, Azam L, Hone A J, *et al.* Human $\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptor subunits assemble to form functional receptors. *J Biol Chem*, 2025, **301**(2): 108182
- [16] Indurthi D C, Pera E, Kim H L, *et al.* Presence of multiple binding sites on $\alpha 9\alpha 10$ nAChR receptors alludes to stoichiometric-dependent action of the α -conotoxin, Vc1.1. *Biochem Pharmacol*, 2014, **89**(1): 131-140
- [17] Marcovich I, Moglie M J, Carpaneto Freixas A E, *et al.* Distinct evolutionary trajectories of neuronal and hair cell nicotinic acetylcholine receptors. *Mol Biol Evol*, 2020, **37**(4): 1070-1089
- [18] Pedersen J E, Bergqvist C A, Larhammar D. Evolution of vertebrate nicotinic acetylcholine receptors. *BMC Evol Biol*, 2019, **19**(1): 38
- [19] Azam L, McIntosh J M. Molecular basis for the differential sensitivity of rat and human $\alpha 9\alpha 10$ nAChRs to α -conotoxin RgIA. *J Neurochem*, 2012, **122**(6): 1137-1144
- [20] Romero H K, Christensen S B, Di Cesare Mannelli L, *et al.* Inhibition of $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors prevents chemotherapy-induced neuropathic pain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(10): E1825-E1832
- [21] Vetter D E, Katz E, Maison S F, *et al.* The $\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptor subunit is required for normal synaptic function and integrity of the olivocochlear system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(51): 20594-20599
- [22] Vetter D E, Liberman M C, Mann J, *et al.* Role of $\alpha 9$ nicotinic ACh receptor subunits in the development and function of cochlear efferent innervation. *Neuron*, 1999, **23**(1): 93-103
- [23] Castagna V C, Boero L E, Di Guilmi M N, *et al.* Strengthening medial olivocochlear feedback reduces the developmental impact of early noise exposure. *J Neurosci*, 2025, **45**(39): e0805252025
- [24] Mondul J A, Burke K, Morley B, *et al.* $\alpha 9\alpha 10$ knockout mice show altered physiological and behavioral responses to signals in masking noise. *J Acoust Soc Am*, 2024, **155**(5): 3183-3194
- [25] Zhang X, Lei B, Yuan Y, *et al.* Brain control of humoral immune responses amenable to behavioural modulation. *Nature*, 2020, **581**(7807): 204-208
- [26] Foffi E, Rugolo F, Ramamurthy N, *et al.* B cell-derived acetylcholine mitigates skin inflammation in mice through $\alpha 9$ nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, **122**(17): e2501960122
- [27] Kurata-Sato I, Mughrabi I T, Rana M, *et al.* Vagus nerve stimulation modulates distinct acetylcholine receptors on B cells and limits the germinal center response. *Sci Adv*, 2024, **10**(17): eadn3760
- [28] Zakrzewicz A, Richter K, Agné A, *et al.* Canonical and novel non-canonical cholinergic agonists inhibit ATP-induced release of monocytic interleukin-1 β via different combinations of nicotinic acetylcholine receptor subunits $\alpha 7$, $\alpha 9$ and $\alpha 10$. *Front Cell Neurosci*, 2017, **11**: 189
- [29] Liu S, Zheng C, Nechanitzky R, *et al.* Cholinergic regulation of thymocyte negative selection. *Nat Immunol*, 2025, **26**(6): 881-893
- [30] Lips K S, Pfeil U, Kummer W. Coexpression of $\alpha 9$ and $\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors in rat dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience*, 2002, **115**(1): 1-5
- [31] Hone A J, Meyer E L, McIntyre M, *et al.* Nicotinic acetylcholine receptors in dorsal root ganglion neurons include the $\alpha 6\beta 4^*$ subtype. *FASEB J*, 2012, **26**(2): 917-926
- [32] Shiers S, Klein R M, Price T J. Quantitative differences in neuronal subpopulations between mouse and human dorsal root ganglia demonstrated with RNAscope *in situ* hybridization. *Pain*, 2020, **161**(10): 2410-2424
- [33] Krenmiller K M, Kulkarni G C, Harris L M, *et al.* Discovery of antinociceptive $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptor antagonists by stable receptor expression. *ACS Chem Biol*, 2024, **19**(11): 2291-2303
- [34] Colomer C, Olivos-Oré L A, Vincent A, *et al.* Functional characterization of $\alpha 9$ -containing cholinergic nicotinic receptors in the rat adrenal medulla: implication in stress-induced functional plasticity. *J Neurosci*, 2010, **30**(19): 6732-6742
- [35] Elgoyhen A B. The $\alpha 9\alpha 10$ acetylcholine receptor: a non-neuronal

- nicotinic receptor. *Pharmacol Res*, 2023, **190**: 106735
- [36] Chernyavsky A I, Arredondo J, Vetter D E, *et al*. Central role of $\alpha 9$ acetylcholine receptor in coordinating keratinocyte adhesion and motility at the initiation of epithelialization. *Exp Cell Res*, 2007, **313**(16): 3542-3555
- [37] Baumann L, Kauschke V, Vikman A, *et al*. Deletion of nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 9$ in mice resulted in altered bone structure. *Bone*, 2019, **120**: 285-296
- [38] Vyas P, Wood M B, Zhang Y, *et al*. Characterization of HA-tagged $\alpha 9$ and $\alpha 10$ nAChRs in the mouse cochlea. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 21814
- [39] Lipovsek M, Im G J, Franchini L F, *et al*. Phylogenetic differences in calcium permeability of the auditory hair cell cholinergic nicotinic receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(11): 4308-4313
- [40] Bachman J L, Kitcher S R, Vattino L G, *et al*. GABAergic synapses between auditory efferent neurons and type II spiral ganglion afferent neurons in the mouse cochlea. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, **122**(8): e2409921122
- [41] Wedemeyer C, Vattino L G, Moglie M J, *et al*. A gain-of-function mutation in the $\alpha 9$ nicotinic acetylcholine receptor alters medial olivocochlear efferent short-term synaptic plasticity. *J Neurosci*, 2018, **38**(16): 3939-3954
- [42] Bye L J, Finol-Urdaneta R K, Tae H S, *et al*. Nicotinic acetylcholine receptors: key targets for attenuating neurodegenerative diseases. *Int J Biochem Cell Biol*, 2023, **157**: 106387
- [43] Shelukhina I, Siniavin A, Kasheverov I, *et al*. $\alpha 7$ - and $\alpha 9$ -containing nicotinic acetylcholine receptors in the functioning of immune system and in pain. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(7): 6524
- [44] Mobasher M, Hone A J, Pilzecker M, *et al*. Putative $\alpha 7$ -selective ligands interact with $\alpha 9$ -containing nicotinic acetylcholine receptors and modulate immune functions of human mononuclear phagocytes. *Front Immunol*, 2026, **17**: 1773637
- [45] Richter K, Asci N, Singh V K, *et al*. Activation of endothelial NO synthase and P2X7 receptor modification mediates the cholinergic control of ATP-induced interleukin-1 β release by mononuclear phagocytes. *Front Immunol*, 2023, **14**: 1140592
- [46] Tae H S, Hung A, Clark R J, *et al*. Molecular determinants of the selectivity and potency of α -conotoxin Vc1.1 for human nicotinic acetylcholine receptors. *J Biol Chem*, 2025, **301**(1): 108017
- [47] Yin Z, Song X, Zhou Y, *et al*. Discovery and optimization of a monodisulfide conotoxin defines a potent and selective $\alpha 9 \alpha 10$ nAChR blocker with analgesic efficacy. *J Med Chem*, 2026, **69**(5): 5913-5924
- [48] Xu P, Zhang P, Zhu X, *et al*. Structure-activity relationships of alanine scan mutants αO -conotoxins GeXIVA [1, 2] and GeXIVA [1, 4]. *J Med Chem*, 2023, **66**(14): 10092-10107
- [49] Azam L, Christensen S B, Riaz Z, *et al*. $\alpha 9$ -containing nicotinic acetylcholine receptors are required for RgIA-5474 attenuation of chemotherapy-induced neuropathic pain. *ACS Pharmacol Transl Sci*, 2024, **7**(12): 3935-3944
- [50] Vivekanandarajah A, Waters K A, Machaalani R. Postnatal nicotine effects on the expression of nicotinic acetylcholine receptors in the developing piglet hippocampus and brainstem. *Int J Dev Neurosci*, 2015, **47**(Pt B): 183-191
- [51] Vivekanandarajah A, Chan Y L, Chen H, *et al*. Prenatal cigarette smoke exposure effects on apoptotic and nicotinic acetylcholine receptor expression in the infant mouse brainstem. *Neurotoxicology*, 2016, **53**: 53-63
- [52] Lykhmus O, Voytenko L P, Lips K S, *et al*. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 9$ and $\alpha 10$ subunits are expressed in the brain of mice. *Front Cell Neurosci*, 2017, **11**: 282
- [53] Morley B J, Whiteaker P, Elgoyhen A B. Commentary: nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 9$ and $\alpha 10$ subunits are expressed in the brain of mice. *Front Cell Neurosci*, 2018, **12**: 104
- [54] Slika E, Fuchs P A. Genetic tools for studying cochlear inhibition. *Front Cell Neurosci*, 2024, **18**: 1372948
- [55] Slika E, Fuchs P A, Wood M B. Virally mediated enhancement of efferent inhibition reduces acoustic trauma in wild-type murine cochleas. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2025, **33**(2): 101455
- [56] Di Cesare Mannelli L, Cinci L, Micheli L, *et al*. α -conotoxin RgIA protects against the development of nerve injury-induced chronic pain and prevents both neuronal and glial derangement. *Pain*, 2014, **155**(10): 1986-1995
- [57] Callaghan B, Adams D J. Analgesic α -conotoxins Vc1.1 and Rg1A inhibit N-type calcium channels in sensory neurons of $\alpha 9$ nicotinic receptor knockout mice. *Channels*, 2010, **4**(1): 51-54
- [58] Napier I A, Klimis H, Rycroft B K, *et al*. Intrathecal α -conotoxins Vc1.1, AuIB and MII acting on distinct nicotinic receptor subtypes reverse signs of neuropathic pain. *Neuropharmacology*, 2012, **62**(7): 2202-2207
- [59] Mohammadi S, Christie M J. $\alpha 9$ -nicotinic acetylcholine receptors contribute to the maintenance of chronic mechanical hyperalgesia, but not thermal or mechanical allodynia. *Mol Pain*, 2014, **10**: 64
- [60] Pacini A, Micheli L, Maresca M, *et al*. The $\alpha 9 \alpha 10$ nicotinic receptor antagonist α -conotoxin RgIA prevents neuropathic pain induced by oxaliplatin treatment. *Exp Neurol*, 2016, **282**: 37-48
- [61] Wolf P M K, Hanke D, Singh V K, *et al*. The ATP-mediated cytokine release by macrophages is down-modulated by unconventional $\alpha 9^*$ nicotinic acetylcholine receptors. *Front Immunol*, 2025, **16**: 1661114
- [62] Zhang C, Guo X, Wang Y, *et al*. The role of acetylcholine and its receptors in tumor immune regulation: mechanisms and potential therapeutic targets. *Mol Cancer*, 2025, **24**(1): 231
- [63] Song X, Liu Q, Tao Q. tsRNA-10547 generated by M1A modification-mediated tRNA shearing promotes colorectal cancer metastasis *via* suppressing CHRNA9. *Arch Biochem Biophys*, 2026, **782**: 110866
- [64] Feng X, Tian Y, Guo X, *et al*. $\alpha 9$ nicotinic acetylcholine receptor promotes tumor proliferation and suppresses ferroptosis in triple-negative breast cancer. *Biomolecules*, 2025, **15**(6): 835
- [65] Ochirbat S, Kan T C, Hsu C C, *et al*. The angiogenic role of the $\alpha 9$ -nicotinic acetylcholine receptor in triple-negative breast

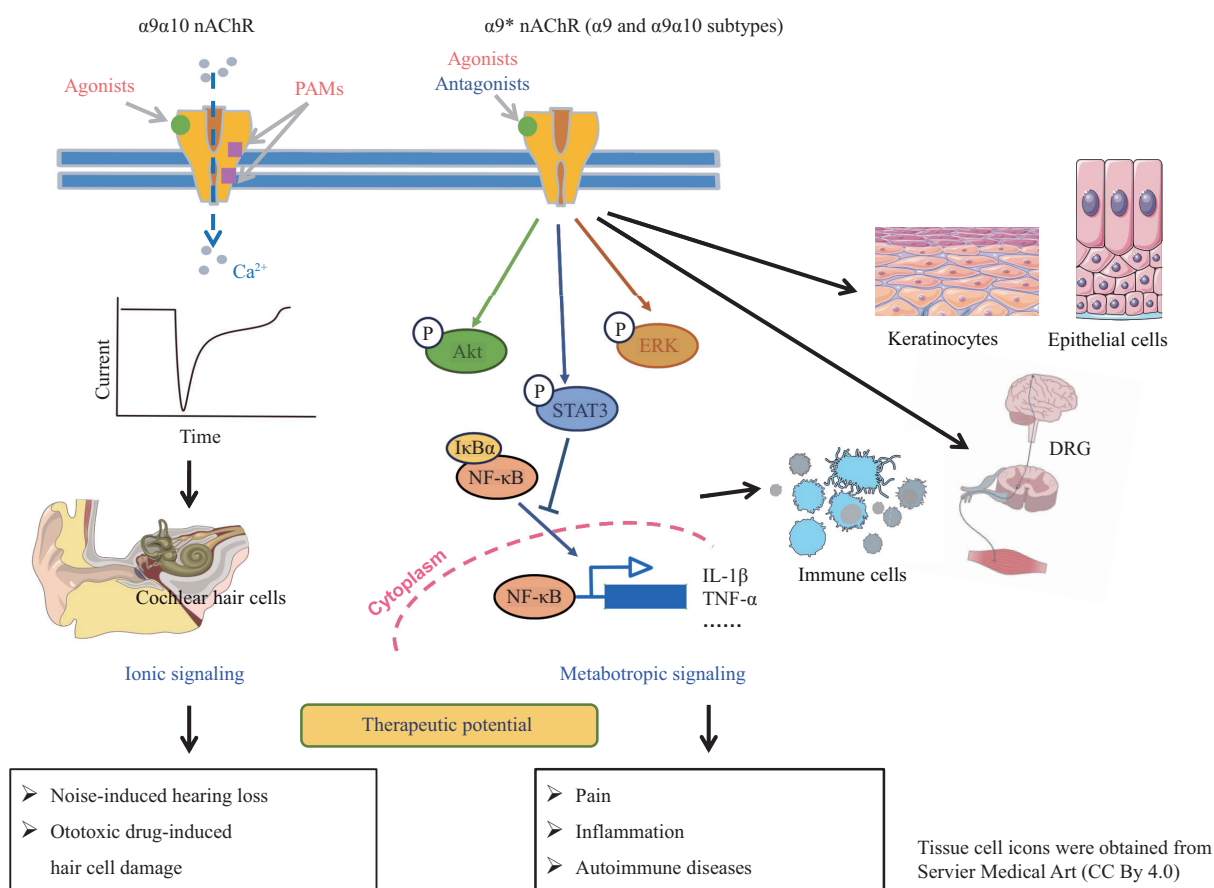
- cancers. *Angiogenesis*, 2024, **27**(4): 827-843
- [66] Ma X, Geng R, Zhao Y, *et al.* CHRNA9 as a new prognostic marker and potential therapeutic target in glioma. *J Cancer*, 2024, **15**(8): 2095-2109
- [67] Liao Y C, Wang L H, Hung M C, *et al.* Investigation of the α 9-nicotinic receptor single nucleotide polymorphisms induced oncogenic properties and molecular mechanisms in breast cancer. *Hum Mol Genet*, 2024, **33**(22): 1948-1965
- [68] Simpkins C, Toska E. Sparking malignancy: nicotine as a driver of stemness and metastasis in triple-negative breast cancer. *J Pathol*, 2025, **267**(4): 367-370
- [69] Kuo Y C, Chen C L, Lee K L, *et al.* Nicotine-driven enhancement of tumor malignancy in triple-negative breast cancer *via* additive regulation of CHRNA9 and IGF1R. *J Pathol*, 2025, **266**(2): 230-245
- [70] Liao Y C, Cheng T C, Tu S H, *et al.* Tumor targeting and therapeutic assessments of RNA nanoparticles carrying α 9-nAChR aptamer and anti-miR-21 in triple-negative breast cancers. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2023, **33**: 351-366
- [71] Giraudo A, Pallavicini M, Bolchi C. Small molecule ligands for α 9* and α 7 nicotinic receptors: a survey and an update, respectively. *Pharmacol Res*, 2023, **193**: 106801
- [72] Papke R L, Andleeb H, Stokes C, *et al.* Selective agonists and antagonists of α 9 versus α 7 nicotinic acetylcholine receptors. *ACS Chem Neurosci*, 2022, **13**(5): 624-637
- [73] Richter K, Herz S M, Stokes C, *et al.* Pharmacological profiles and anti-inflammatory activity of pCN-diEPP and mCN-diEPP, new α 9 α 10 nicotinic receptor ligands. *Neuropharmacology*, 2023, **240**: 109717
- [74] Andleeb H, Papke R L, Stokes C, *et al.* Explorations of agonist selectivity for the α 9* nAChR with novel substituted carbamoyl/amido/heteroaryl dialkylpiperazinium salts and their therapeutic implications in pain and inflammation. *J Med Chem*, 2024, **67**(11): 8642-8666
- [75] Dallanocce C, Richter K, Stokes C, *et al.* New Alpha9 nAChR ligands based on a 5-(quinuclidin-3-ylmethyl)-1, 2, 4-oxadiazole scaffold. *ACS Chem Neurosci*, 2024, **15**(4): 827-843
- [76] Rothlin C V, Katz E, Verbitsky M, *et al.* The α 9 nicotinic acetylcholine receptor shares pharmacological properties with type A gamma-aminobutyric acid, glycine, and type 3 serotonin receptors. *Mol Pharmacol*, 1999, **55**(2): 248-254
- [77] Rothlin C V, Lioudyno M I, Silbering A F, *et al.* Direct interaction of serotonin type 3 receptor ligands with recombinant and native α 9 α 10-containing nicotinic cholinergic receptors. *Mol Pharmacol*, 2003, **63**(5): 1067-1074
- [78] Rothlin C V, Katz E, Verbitsky M, *et al.* Block of the α 9 nicotinic receptor by ototoxic aminoglycosides. *Neuropharmacology*, 2000, **39**(13): 2525-2532
- [79] Zheng G, Zhang Z, Dowell C, *et al.* Discovery of non-peptide, small molecule antagonists of α 9 α 10 nicotinic acetylcholine receptors as novel analgesics for the treatment of neuropathic and tonic inflammatory pain. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, **21**(8): 2476-2479
- [80] Tae H S, Ortells M O, Tekarli B J, *et al.* DM506 (3-methyl-1, 2, 3, 4, 5, 6-hexahydroazepino [4, 5-b] indole fumarate), a novel derivative of ibogamine, inhibits α 7 and α 9 α 10 nicotinic acetylcholine receptors by different allosteric mechanisms. *ACS Chem Neurosci*, 2023, **14**(14): 2537-2547
- [81] Giraudo A, Tae H S, Hung A, *et al.* Dual agonist/antagonist modulation of α 9-containing nicotinic acetylcholine receptors by 2-ammoniummethyl ethers of stilbenol and stilbenol analogues. *J Med Chem*, 2025, **68**(24): 26099-26120
- [82] Zheng N, Christensen S B, Blakely A, *et al.* Development of conformationally constrained α -RgIA analogues as stable peptide antagonists of human α 9 α 10 nicotinic acetylcholine receptors. *J Med Chem*, 2020, **63**(15): 8380-8387
- [83] Zheng N, Christensen S B, Dowell C, *et al.* Discovery of methylene thioacetal-incorporated α -RgIA analogues as potent and stable antagonists of the human α 9 α 10 nicotinic acetylcholine receptor for the treatment of neuropathic pain. *J Med Chem*, 2021, **64**(13): 9513-9524
- [84] Xu P, Kaas Q, Wu Y, *et al.* Structure and activity studies of disulfide-deficient analogues of α O-conotoxin GeXIVA. *J Med Chem*, 2020, **63**(4): 1564-1575
- [85] Zorrilla de San Martín J, Ballestero J, Katz E, *et al.* Ryanodine is a positive modulator of acetylcholine receptor gating in cochlear hair cells. *J Assoc Res Otolaryngol*, 2007, **8**(4): 474-483
- [86] Boffi J C, Wedemeyer C, Lipovsek M, *et al.* Positive modulation of the α 9 α 10 nicotinic cholinergic receptor by ascorbic acid. *Br J Pharmacol*, 2013, **168**(4): 954-965
- [87] Burke S M, Avstrikova M, Noviello C M, *et al.* Structural mechanisms of α 7 nicotinic receptor allosteric modulation and activation. *Cell*, 2024, **187**(5): 1160-1176.e21
- [88] Liu S, Zheng Y, Chen H, *et al.* Structural basis for allosteric agonism of human α 7 nicotinic acetylcholine receptors. *Cell Discov*, 2025, **11**: 35
- [89] Thompson M J, Tessier C J G, Ananchenko A, *et al.* Asynchronous subunit transitions prime acetylcholine receptor activation. *Science*, 2026, **391**(6780): eadw1264

Structure and Function of The $\alpha 9$ Nicotinic Acetylcholine Receptor*

ZHENG Yi-Ning, WANG Xu-Dong, LIU San-Ling**

(Beijing Life Science Academy, Beijing 102200, China)

Graphical abstract



Abstract Nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) are pentameric ligand-gated ion channels (pLGICs) that mediate rapid cholinergic synaptic transmission throughout the central and peripheral nervous systems. These receptors are integral to neuromuscular junction signaling, autonomic regulation, cognitive learning, reward-related behavior, and neuroplasticity. The nAChR family exhibits remarkable functional diversity through combinatorial assembly of seventeen identified subunits ($\alpha 1$ – $\alpha 10$, $\beta 1$ – $\beta 4$, γ , δ , and ϵ). Among these, the $\alpha 9$ subunit occupies a distinctive phylogenetic position, exhibiting greater sequence divergence from other neuronal α subunits and possessing unique biochemical properties that distinguish it from all other family members. $\alpha 9$ can

* This work was supported by grants from Beijing Life Science Academy Ltd (2023000CC0050, 2025103QPIC01).

** Corresponding author.

Tel: 86-10-50853053, E-mail: liusl@blsa.com.cn

Received: May 20, 2026 Accepted: July 16, 2026

form homopentamers and also co-assemble with the $\alpha 10$ subunit to form functional heteropentamers, primarily in $(\alpha 9)_2(\alpha 10)_3$ and $(\alpha 9)_3(\alpha 10)_2$ stoichiometries. This dual assembly strategy generates functional heterogeneity, as distinct subunit compositions confer differential ion permeation, ligand sensitivity, and desensitization kinetics. The structural determinants governing this stoichiometric variability remain incompletely resolved, representing a critical gap in our mechanistic understanding. Unlike most other nAChR subtypes, traditional agonists of nAChRs (such as nicotine) elicit virtually no agonistic effect on $\alpha 9^*$ nAChRs ($\alpha 9$ -containing receptors, including $\alpha 9$ homopentamers and $\alpha 9\alpha 10$ heteropentamers). This pharmacological divergence reflects structural differences within the orthosteric site, particularly in regions at complementary subunit interfaces. As cation-selective channels, $\alpha 9^*$ nAChRs exhibit high permeability to Ca^{2+} . In cochlear outer hair cells, $\alpha 9\alpha 10$ nAChRs mediate cholinergic efferent modulation by the medial olivocochlear (MOC) bundle. Acetylcholine-evoked Ca^{2+} influx activates functionally coupled SK2 potassium channels, generating net hyperpolarization that dampens electromechanical amplification through a tightly constrained signaling microdomain. This Ca^{2+} -dependent excitatory-to-inhibitory conversion exemplifies sophisticated sensory gain control, and its disruption contributes to noise-induced hearing loss, age-related hearing loss, and tinnitus. Beyond canonical ionotropic signaling, $\alpha 9^*$ nAChR engages metabotropic transduction pathways. In macrophages, receptor activation modulates cytokine production and inflammatory responses. In keratinocytes, it regulates wound healing by modulating cell migration and differentiation. In dorsal root ganglion sensory neurons, $\alpha 9^*$ signaling contributes to nociceptive processing and inflammatory hyperalgesia. This functional pleiotropy, spanning both ionotropic signaling and metabotropic transduction, positions $\alpha 9^*$ nAChR as an exemplary model for investigating signal polymorphism within the pLGIC superfamily. Pathophysiologically, $\alpha 9^*$ nAChR dysfunction is implicated across multiple organ systems. In the auditory system, disruption of $\alpha 9\alpha 10$ nAChR-mediated MOC efferent feedback impairs cochlear gain control, predisposing to noise-induced synaptopathy and age-related hearing loss. In immune cells, dysfunctional $\alpha 9^*$ nAChR signaling disrupts cholinergic anti-inflammatory pathway activity, exacerbating pro-inflammatory responses. In the peripheral sensory system, aberrant $\alpha 9^*$ nAChR signaling has been implicated in neuropathic and inflammatory pain states. In skin, impaired receptor function compromises keratinocyte migration and re-epithelialization through disrupted signaling pathways, leading to chronic wound healing defects and inflammation. These pathophysiological associations have catalyzed pharmacological interest, yielding promising chemical entities including α -conotoxins, small-molecule antagonists/agonists, and allosteric modulators. α -Conotoxin peptides, in particular, demonstrate remarkable subunit selectivity and potent antinociceptive effects in preclinical pain models. However, therapeutic translation faces substantial challenges: the broad tissue distribution of $\alpha 9^*$ nAChR risks on-target adverse effects in non-target organs; pronounced species differences between rodent and human receptors complicate preclinical validation; and the complexity of ionotropic-metabotropic signaling crosstalk demands pharmacological strategies that extend beyond conventional orthosteric agonism or antagonism. Looking forward, integrating cryo-electron microscopy of full-length receptors in distinct conformational states with single-channel electrophysiology and systems-level circuit analysis promises to illuminate the molecular mechanisms governing $\alpha 9^*$ nAChR function and regulation. The development of signal pathway-biased ligands and tissue-selective delivery strategies may ultimately harness the therapeutic potential of this receptor while mitigating safety liabilities. As a paradigm for understanding pLGIC signaling diversification, $\alpha 9^*$ nAChR research will continue to inform broader questions regarding ion channel evolution, allosteric regulation, and pathophysiological mechanisms of chronic pain and autoimmune inflammatory diseases.

Key words nicotinic acetylcholine receptor, nicotine, $\alpha 10$, hair cell protection, chronic pain, inflammation, peptide, drug target

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0279

CSTR: 32369.14.pibb.20260279