

• 综述 •

双孔钾通道 TREK-1 中枢神经系统药理学研究进展

单金凤, 王伟平, 王晓良*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 双孔钾离子通道 (two-pore domain potassium channels, K_2P) 是 20 世纪 90 年代发现的一类钾离子通道亚家族, 其中 TREK-1 是研究最为广泛的一种 K_2P 亚型。TREK-1 广泛存在于机体内, 特别是在中枢神经系统中高表达, 它的主要作用是控制细胞兴奋性并维持膜电位低于去极化阈值, 因此参与调节多种生理和病理过程。TREK-1 也是多种疾病潜在的靶点, 很多已上市药物可影响 TREK-1 的功能, 但目前缺少特异性的 TREK-1 调节剂和以 TREK-1 为靶点的药物。本文在介绍 TREK-1 的结构、分布以及调控的基础上, 重点介绍近年来 TREK-1 在神经保护、癫痫、抑郁以及麻醉等方面的药理学研究进展和相关的 TREK-1 调节剂的研究现状。

关键词: 双孔钾通道; TREK-1; 神经保护; 癫痫; 抑郁; 麻醉

中图分类号: R964 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)07-1357-07

Progress in understanding the central nervous system pharmacology of the two-pore domain potassium channel TREK-1

SHAN Jin-feng, WANG Wei-ping, WANG Xiao-liang*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Two-pore domain potassium channels (K_2P) make up a subfamily of potassium channels discovered in the 1990s, and TREK-1 is the most widely studied subtype of K_2P . TREK-1 is widely expressed in the body and especially in the central nervous system, where its main role is to control cell excitability and maintain the membrane potential below the depolarization threshold. It thereby participates in regulating various physiological and pathological processes. TREK-1 is also a potential drug target in many diseases. It is known that many marketed drugs can affect the function of TREK-1, but currently there are no specific TREK-1 modulators or drugs. We review the structure, distribution and regulation of TREK-1 and focus on recent progress in understanding the pharmacology of TREK-1 and its role in neuroprotection, depression, anesthesia and epilepsy. The research status of TREK-1 modulators is discussed.

Key words: two-pore domain potassium channel; TREK-1; neuroprotection; epilepsy; depression; anesthesia

双孔钾通道是 20 世纪 90 年代发现的钾离子通道, 包括 15 个成员, 并根据它们的序列相似性将其分为 6 个亚家族^[1-4], TWIK、THIK、TASK、TALK、TREK 和 TRESK 6 大类^[1]。TREK-1 属于 TWIK 相关的双孔钾通道亚家族^[1]。TREK-1 是一种背景钾通道, 在可兴奋

细胞和不可兴奋细胞中均有表达, 在维持细胞膜静息电位、动作电位时程、神经递质的释放中发挥作用^[5]。

1 TREK-1 的结构、调控和分布

TREK-1 具有 4 个跨膜片段 (M1~M4) 和 2 个孔道结构域 (P1、P2), 胞内侧有 1 个较短的氨基端和 1 个较长的羧基端, 胞外侧 M1 和 P1 之间形成 1 个环形结构^[6,7], 2 个通道亚基通过该环形结构的共价二硫键形成二聚体, 发挥其功能, 结构如图 1 所示^[5]。 K_2P 通道具有独特的孔特征序列: 在第 1 孔 (P1) 上的 Gly-Tyr

收稿日期: 2020-05-21; 修回日期: 2020-06-23.

基金项目: 重大新药创制科技重大专项 (2018ZX09711001-004-004).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63165330, E-mail: wangxl@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-0801

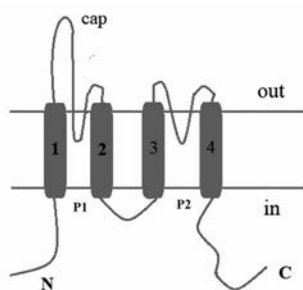


Figure 1 Structural organization of two-pore domain potassium channels (K_2P): schematic representation of K_2P subunit organization, with the two pore domains, the four transmembrane domains and the extracellular cap

(Phe)-Gly 和在第 2 孔 (P2) 上的 Gly-Leu(Phe)-Gly^[8]。编码 TREK-1 的基因 *KCNK2* 位于染色体 1q41 上^[9]。

TREK-1 的功能受各种物理、化学因素和生物效应器的调节,如温度、张力、酸度、麻醉剂和第二信使等^[10-12],这里不再详细论述。TREK-1 的一个特征是对经典的钾通道阻滞剂如四乙基铵 (TEA)、4-氨基吡啶 (4-AP)、 Ba^{2+} 等均不敏感^[8,13]。TREK-1 分布广泛,在大鼠和小鼠中枢神经系统中均有表达^[14,15],据报道 TREK-1 首先是从小鼠大脑中克隆出来^[16]。在人类中枢神经系统中, TREK-1 在嗅球、海马体、大脑皮层以及尾状核和壳核中的 γ -氨基丁酸 (GABA) 中间神经元中高表达^[16],在前额叶皮质、海马、下丘脑和中脑的 5-羟色胺能神经元和背根神经节中的感觉神经元中亦有丰富的表达^[17]。TREK-1 在众多外周组织中如胃肠平滑肌、肺组织以及血管内皮细胞、心房和心肌细胞都有表达^[15,18]。此外, TREK-1 也表达于神经元树突以及海马区成熟的星形胶质细胞^[19]。

2 TREK-1 与神经保护作用

TREK-1 广泛分布于中枢神经系统,其在神经保护特别是抗缺血缺氧损伤/保护的作用一直倍受关注。发生脑缺血时,细胞会产生花生四烯酸 (arachidonic acid, AA) 和溶血磷脂 A,并形成酸中毒,上述因素均可激活 TREK-1^[8]。据报道 TREK-1 激活剂异氟烷预处理能够提高缺糖缺氧 (oxygen glucose deprivation, OGD) 模型中 SH-SY5Y 细胞生存率,还明显降低大脑中动脉栓塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型中大鼠脑梗死体积。这些发现进一步证实,异氟烷预处理对缺血的神经保护作用与 TREK-1 密切相关^[20]。不饱和脂肪酸亚麻酸 (linolenic acid, LNA) 和 AA 对 TREK-1 都具有激活开放作用,能够起到一定的神经保护作用^[21-23]。此外,神经保护剂一氧化氮和利鲁唑均是 TREK-1 的潜在开放剂^[24,25]。对 *TREK-1* 基因敲除小

鼠模型研究发现,在双侧颈动脉夹闭模型中, *TREK-1* 基因敲除鼠与野生型小鼠相比,在缺血再灌注时神经元丢失量和动物死亡率明显增加^[26];在缺血前 30 min 给予溶血磷脂酰胆碱 (lysophosphatidyl choline, LPC) 后, *TREK-1* 基因敲除鼠与野生型小鼠相比神经元死亡数明显减少、动物存活率增高^[26]。激活 TREK-1 参与脑缺血保护作用的机制可能为: TREK-1 被一些病理因素激活,降低神经元的兴奋性,减少其代谢需求。突触前神经元超极化,限制电压依赖性钙通道激活,减少钙内流,突触后神经元超极化,增加 Mg^{2+} 对 *N*-甲基天冬氨酸 (NMDA) 受体的阻断作用,降低谷氨酸对神经元的兴奋性毒性^[8,27]。但是也有大量文献表明,抑制 TREK-1 也能产生神经保护作用。本课题组早期的研究^[27]结果显示, MCAO 2 和 24 h 以后,大鼠海马和皮层中的 TREK-1 的 mRNA 表达量和 TREK-1 蛋白表达量均明显增加,说明 TREK-1 参与了急性脑缺血过程。细胞水平实验也证明了 TREK-1 有神经保护作用。原代培养的大鼠皮层神经元和海马神经元联合 OGD 24 h 后, TREK-1 蛋白表达上调^[27]。抗脑缺血药 *L*-NBP (*L*-3-*n*-butylphthalide) 及其衍生物 lig4-4 可以显著抑制 TREK-1 电流^[28,29]。此外,神经保护剂西帕曲近、Spadin 以及氟西汀均可以显著抑制 TREK-1 电流^[30-32]。TREK-1 抑制剂五氟利多和甲硫氨酸均可促进星形胶质细胞源性神经营养因子的合成^[33]。TREK-1 还可以对抗 H_2O_2 和硝普钠 (SNP) 引起的氧化损伤而产生保护作用^[13]。抑制 TREK-1 参与脑缺血保护作用的机制可能为:脑缺血期间,大量钾离子外流,抑制 TREK-1 可减少钾离子的过度外流,从而减少钾离子过度外流诱发的神经元凋亡产生保护作用^[29]。在脑缺血发生的不同阶段, TREK-1 产生保护作用的调节模式可能有所不同^[29]。鉴于 TREK-1 参与抗缺血缺氧损伤/保护作用的具体机制还存在争议,其在脑缺血的功能还需进一步研究。

除脑缺血外,还有研究表明 TREK-1 与缺血后损伤、神经炎症及细胞增殖有关。与野生型小鼠相比, *TREK-1* 基因敲除小鼠脑出血后血脑屏障损伤程度增加,促炎因子白细胞介素- 1β 、肿瘤坏死因子 α 和细胞黏附分子分泌增加^[34],神经损伤加重; Nissl 染色结果表明,脑出血后第 3 天 *TREK-1* 基因敲除小鼠的神经元丢失量明显多于野生型鼠^[34]; TUNEL 染色结果表明, *TREK-1* 基因敲除小鼠神经元凋亡数明显多于野生型小鼠。这些结果提示, TREK-1 可能是治疗脑缺血后继发性损伤的一个潜在靶点^[34]。在脊髓损伤模型组中, *TREK-1* 基因敲除小鼠同野生型小鼠相比,反应性星形胶质细胞增生加重,神经元和少突胶质细胞凋亡增加,运动功能

恢复变慢^[35]。TREK-1 可能也是治疗脊髓损伤的一个有前途的药物靶点。在小鼠实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中, 药物阻断或基因敲除 TREK-1 通道均可导致炎症浸润增加和神经损伤^[36,37]。其他研究表明, 激活 TREK-1 能够增强缺氧后的星形胶质细胞对谷氨酸清除能力, 降低炎症因子的分泌^[33,38], 推断 TREK-1 可能通过调节钾离子外流和膜电位参与神经炎症。本课题组前期的研究^[39]结果显示, TREK-1 在中国仓鼠卵巢 (Chinese hamster ovary, CHO) 细胞中的过表达能够抑制蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 的活性, 增加 p38 的活性, 从而抑制细胞周期蛋白 D1 的表达, 最终导致细胞周期阻滞在 DNA 合成前期/DNA 合成期 (G1/S)。尽管 TREK-1 和 PKA 的调控机制需要进一步研究, 但该实验证明了 TREK-1 过表达能够使得 DNA 合成前期/DNA 合成期 (G1/S) 的细胞增多, 提示 TREK-1 可能参与细胞的增殖。

3 TREK-1 与癫痫

TREK-1 和癫痫也具有一定的相关性。TREK-1 在皮层和海马突触前和突触后大量表达, 对癫痫发作特别敏感^[40,41]。TREK-1 激活剂 LNA 和 LPC 亦能够降低由谷氨酸受体激动剂海人藻酸诱发的野生型小鼠癫痫发作率, 而在 *TREK-1* 基因敲除小鼠中没有观察到 LNA 和 LPC 对癫痫模型小鼠的治疗作用, 表明 *TREK-1* 基因敲除小鼠对海人藻酸引起的癫痫状态更为敏感^[26]。此外, 体内实验结果表明 LNA 还可保护大鼠免于海人藻酸诱发的癫痫发作和海马损伤^[20]。TREK-1 激活剂多不饱和脂肪酸如 LNA 还能够降低红藻氨酸诱发的大鼠癫痫发作率^[21]。在另一项研究中, TREK-1 通道突变可使培养的海马神经元遭受癫痫持续状态的风险降低 50%^[42]。这些研究证明, TREK-1 通道在癫痫发作过程中具有关键的神经保护作用, 并表明它们有望成为治疗这种常见神经系统疾病的药物靶标。实际上, 咖啡因和茶碱的致癫痫作用已被认为是由于 TREK-1 通道的阻滞所致^[43]。

4 TREK-1 与抑郁症

TREK-1 在抑郁症中的研究也比较广泛。研究表明, *TREK-1* 基因敲除小鼠在强迫游泳和悬尾等 5 种不同的抑郁模型中都表现为抗抑郁表型^[44-46]。此外, 临床常用抗抑郁药氟西汀 ($IC_{50} = 19 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和氟西汀代谢产物去甲氟西汀 ($IC_{50} = 9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 也可拮抗 TREK-1 通道^[30]。选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂 (selective serotonin reuptake inhibitors, SSRI) 如西酞普兰和依西酞普兰对 TREK-1 通道也具有不同程度的阻断作用。推测 TREK-1 抑制剂可能成为临床抗抑郁药物的靶点。除了上述非选择性的 TREK-1 阻滞剂以外,

Spadin 作为 TREK-1 通道的特异性阻滞剂, 能刺激海马神经发生, 增强背缝核神经元 5-HT 的释放, 已被作为治疗抑郁症的潜在药物开展临床试验^[31,47,48]。体内实验结果显示, 用 Spadin 处理的小鼠表现出快速诱导的抗抑郁 (但不能抗焦虑) 表型, 结果与在 *TREK-1* 敲除小鼠或用氟西汀治疗的野生小鼠中获得的结果相似, 可能是由于背缝核的 5-羟色胺能神经元活性增加导致^[30]。另外, TREK-1 与脑卒中后抑郁 (post-stroke depression, PSD) 也有关, 已经有实验室研究了 TREK-1 通道在 PSD 病理过程中的可能作用, PSD 是脑卒中后发生的一种高发病率的神经精神疾病。在大鼠 PSD 模型中, TREK-1 在海马和前额叶皮质中的表达上调, 经 TREK-1 抑制剂艾司西酞普兰的慢性治疗后, TREK-1 的表达上调被抑制^[49]。综合上述结果, TREK-1 阻滞剂是治疗抑郁的潜在靶点, 其具体作用机制还有待深入研究。

5 TREK-1 与麻醉

在全身麻醉中, 临床剂量的异氟烷、乙醚、氟烷和氯仿可以激活 TREK-1 通道^[47,50-52], 并且 TREK-1 结构域的 C 末端结构是挥发性麻醉剂发挥激活作用的关键部分^[53]。体内实验显示, *TREK-1* 基因敲除的小鼠对 TREK-1 激活剂异氟烷、氟烷和氯仿的敏感性降低, 引起麻醉作用的阈值和剂量需要更高^[26]。而全身麻醉剂苯巴比妥无法调节 TREK-1 通道, 在 *TREK-1*^{-/-} 小鼠中无法重现这些效果^[26]。本课题组的前期研究^[39]结果表明, 静脉麻醉剂氯胺酮和依托咪酯都能够激活 TREK-1, 氯仿也能够激活 TREK-1。在临床上, 氯胺酮不仅作为麻醉剂使用, 而且还有抗抑郁作用, Berman 等^[54]发现, 抑郁症患者注射 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 氯胺酮 4 h 后, 患者的汉密尔顿抑郁量表 (Hamilton depression rating scale, HAMD) 评分明显下降, 而且氯胺酮抗抑郁作用可以持续 3 天。氯胺酮于 2019 年被 FDA 批准为抗抑郁药物。依托咪酯是临床上常用的麻醉剂, 依托咪酯发挥麻醉作用的靶点认为与 GABA 有关。据报道, 依托咪酯在大鼠急性分离的骶髓后连合核 (sacral dorsal commissural nucleus, SDCN) 神经元中可通过作用于 GABA_A 受体而诱发氯通道电流^[55], 且激活 GABA_A 的 EC_{50} 为 $33.35 \pm 3.07 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 但无法排除依托咪酯的麻醉作用与 TREK-1 的相关性。

6 TREK-1 在其他疾病方面的作用

TREK-1 还可能是非甾体抗炎药 (non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) 镇痛作用的靶点之一。常用的 NSAIDs 氟芬那酸和甲芬那酸都能够显著激活开放 TREK-1 通道, 而不受环氧合酶-环氧化酶抑制^[56,57]。而抗精神病药物 (治疗精神分裂症和双相情

感障碍)多有阻滞 TREK-1 通道的作用^[58],典型的和非典型的抗精神病药都对 TREK-1 有阻滞作用,如氯丙嗪 ($IC_{50} = 2.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和洛沙平 ($IC_{50} = 19.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 均能够剂量依赖性阻滞 TREK-1,推测精神分裂症和双相情感障碍可能存在一定的联系,且都与 TREK-1 有一定的关联。目前,关于这方面的研究还较少,具体相关性还需要大量的实验去验证。TREK-1 在癌症中的表达也有变化。据报道, TREK-1 在宫颈癌和前列腺癌中的表达上调^[59]。

7 TREK-1 调节剂

由于上调 TREK-1 和下调 TREK-1 均能产生生理生理效应, TREK-1 的激活剂和抑制剂也逐渐成为药物作用靶点用来寻找新的神经保护剂,部分现有的 TREK-1 调节剂主要有:

3-正丁基苯酞 (3-*n*-butylphthalide, NBP) 是 2002 年底国家食品药品监督管理局批准的一种有效的神经保护剂,是治疗缺血性卒中的药物^[28,60], NBP 的光学异构体 *L*-NBP 对 TREK-1 电流有浓度依赖性抑制作用 ($IC_{50} = 0.6 \pm 0.03 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ *L*-NBP 使 TREK-1/CHO 细胞的静息膜电位从 -55.3 mV 升高到 -42.9 mV ,但对空载 CHO 的细胞膜电位无影响。*L*-NBP 的作用与 TREK-1 激活剂(如不饱和脂肪酸、利鲁唑和挥发性麻醉剂等)的神经保护作用有所不同。*L*-NBP 通过抑制 TREK-1 产生显著的脑保护作用,类似于神经保护剂西帕曲近对 TREK-1 通道的作用^[28]。虽然,目前已证明 NBP 对 TREK-1 具有明显的抑制作用,但它的神经保护作用还可能与其他靶点有关。最近,对 NBP 类似物 lig4-4 的研究表明, lig4-4 也可抑制 TREK-1 电流 (IC_{50} 约为 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),还可抑制缺氧引起的神经元凋亡,减少 MCAO 大鼠的脑梗死体积从而显示出明显的抗脑缺血保护作用^[29]。此类小分子的缺点是虽然对 TREK-1 的特异性相对较好,但其神经保护作用靶点较多。

Spadin 及其衍生物是目前研究最为深入的 TREK-1 调节剂。不同于传统的小分子化合物, Spadin 是一种多肽,包含 17 个氨基酸,是迄今为止最强的 TREK-1 阻断剂, IC_{50} 为 $40\sim 70 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[28,47,49]。为了提高生物利用度和体内稳定性,根据 Spadin 结构开发了长度更短的 Spadin 类似物 (spadin retro-inverso peptides),在强迫游泳实验中,连续静脉注射该类似物 ($10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 4 天,可显著减少模型小鼠静止时间,表现出很好的抗抑郁活性和体内稳定性^[45,61]。Spadin 和/或 Spadin 类似物目前正在进行临床试验中,有可能为抑郁患者提供新的治疗方法^[62]。此类多肽的优点是对 TREK-1 的抑制活性高并且特异性较好。

化合物 SID1900 也能够阻断 HEK293/TREK-1 以及原代培养的大鼠海马神经元细胞中的双孔钾离子通道, IC_{50} 为 $30\sim 50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,并在慢性不可预测轻度应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 大鼠模型中显示出抗抑郁样特性^[63],显著提高 CUMS 大鼠中缝背核和前额皮质内 5-HT 能神经元的放电率。SID1900 的生物利用度和血脑屏障渗透性良好,是一个治疗抑郁症的潜在化合物,而且很有可能成为研究 TREK-1 在其他神经病理学研究中有效的工具药。此化合物的缺点是抑制活性和选择性均较差。

BL-1249 是一种四氮唑类化合物,是人膀胱肌细胞 TREK-1 样电流的激活剂 ($EC_{50} = 1.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),也被证明能够直接激活 TREK-1 通道^[64]。BL-1249 通过 TREK-1 的 C 末端发挥作用,跨膜结构域 M2 和 M3 对选择性至关重要^[65]。镇定剂如氯化锂和抗癫痫药物如加巴喷丁、丙戊酸钠和卡马西平等,也可激活 TREK-1 通道。据报道,有实验室筛选出的化合物 ML67 及其优化的类似物 ML67-33 对 TREK-1 有明显的激活作用^[66]。紧接着同一实验室又开发出 2 种具有更高效价的分子 ML335 和 ML402,都能够明显激活 TREK-1, EC_{50} 分别为 5.2 ± 0.8 和 $5.9 \pm 1.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[67]。此类化合物的缺点是激活活性和选择性均较差。

利鲁唑是一种神经保护分子,临床上用于抗惊厥,也在临床上用于延长肌萎缩性侧索硬化症患者的生存率,其作用机制涉及阻断谷氨酸受体。已显示利鲁唑可作为瞬时 TREK-1 非选择性激活剂在 30 s 内可产生激活作用,在 90 s 后可产生强抑制作用^[24]。其对 TREK-1 的这种双重活性被认为是通过 PKA 激活环磷酸腺苷 (cAMP) 介导的。利鲁唑的缺点是选择性较差,对多种离子通道均有活性。

此外,二氢吡啶类似物氨氯地平和尼古地平都是 $L\text{-Ca}^{2+}$ 阻滞剂,文献^[65]报道它们也具有较强的阻断 TREK-1 通道的作用, IC_{50} 分别为 0.43 和 $0.75 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,其中枢和外周的钙拮抗剂以外的作用有待进一步研究。

8 展望

近年来越来越多的研究证明, TREK-1 在神经系统疾病、麻醉以及抑郁症中发挥重要的作用。过去的十多年,有大量的数据显示了神经保护剂对 TREK-1 通道的调节作用,但是仍然有很多信息未知,需要未来进一步的深入研究和充分挖掘 TREK-1 通道作为多种疾病药物作用靶点的潜能。特别是 TREK-1 不同的调节模式引起的不同病理生理功能。TREK-1 基因敲除小鼠的广泛应用以及 TREK-1 转染表达株的构建都为研究 TREK-1 通道在病理生理条件下的作用提供了强

有力的工具。建立 TREK-1 特异性调节剂筛选方法, 寻找作用于 TREK-1 的安全有效的药物是今后研究的主要目标。无论是 TREK-1 通道活性被激活还是被抑制都与很多疾病相关, 因而 TREK-1 会为治疗中枢神经系统疾病开辟新的视野。

致谢: 本文是在本课题组多年研究 TREK-1 离子通道的基础上完成的综述, 在前期的工作中多名研究生和课题组工作人员做出了重要的贡献, 在此一并表示感谢。

作者贡献: 单金凤负责文章的选题、资料收集以及文章撰写; 王伟平负责文章撰写和修改; 王晓良研究员负责文章的选题、思路和框架的提出以及文章修改, 为该文章的主要负责人。

利益冲突: 本文无利益冲突。

References

- [1] Lesage F, Lazdunski M. Molecular and functional properties of two-pore-domain potassium channels [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2000, 279: 793-801.
- [2] Patel AJ, Honoré E. Properties and modulation of mammalian 2P domain K⁺ channels [J]. *Trends Neurosci*, 2001, 24: 339-346.
- [3] Goldstein SA, Bockenhauer D, O'Kelly I, et al. Potassium leak channels and the KCNK family of two-P-domain subunits [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2001, 2: 175-184.
- [4] Goldstein SA, Price LA, Rosenthal DN, et al. ORK1, a potassium-selective leak channel with two pore domains cloned from *Drosophila melanogaster* by expression in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93: 13256-13261.
- [5] Djillani A, Mazella J, Heurteaux C, et al. Role of TREK-1 in health and disease, focus on the central nervous system [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 379.
- [6] Miller AN, Long SB. Crystal structure of the human two-pore domain potassium channel K2P1 [J]. *Science*, 2012, 335: 432-436.
- [7] Al-Moubarak E, Veale EL, Mathie A. Pharmacologically reversible, loss of function mutations in the TM2 and TM4 inner pore helices of TREK-1 K₂P channels [J]. *Sci Rep*, 2019, 9: 12394.
- [8] Honoré E. The neuronal background K₂P channels: focus on TREK1 [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8: 251-261.
- [9] Kim D. Fatty acid-sensitive two-pore domain K⁺ channels [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2003, 24: 648-654.
- [10] Weller J, Steinhäuser C, Seifert G. pH-Sensitive K⁺ currents and properties of K₂P channels in murine hippocampal astrocytes [J]. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2016, 103: 263-294.
- [11] Yarishkin O, Phuong TTT, Krizaj D. Trabecular meshwork TREK-1 channels function as polymodal integrators of pressure and pH [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60: 2294-2303.
- [12] Pavel MA, Petersen EN, Wang H, et al. Studies on the mechanism of general anesthesia [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117: 13757-13766.
- [13] Sun LN, Li LL, Li ZB, et al. Protective effects of TREK-1 against oxidative injury induced by SNP and H₂O₂ [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29: 1150-1156.
- [14] Fink M, Duprat F, Lesage F, et al. Cloning, functional expression and brain localization of a novel unconventional outward rectifier K⁺ channel [J]. *EMBO J*, 1996, 15: 6854-6862.
- [15] Talley EM, Solorzano G, Lei Q, et al. CNS distribution of members of the two-pore-domain (KCNK) potassium channel family [J]. *J Neurosci*, 2001, 21: 7491-7505.
- [16] Lesage F, Guillemare E, Fink M, et al. TWIK-1, a ubiquitous human weakly inward rectifying K⁺ channel with a novel structure [J]. *EMBO J*, 1996, 15: 1004-1011.
- [17] Medhurst AD, Rennie G, Chapman CG, et al. Distribution analysis of human two pore domain potassium channels in tissues of the central nervous system and periphery [J]. *Mol Brain Res*, 2001, 86: 101-114.
- [18] Blondeau N, Pétrault O, Manta S, et al. Polyunsaturated fatty acids are cerebral vasodilators *via* the TREK-1 potassium channel [J]. *Circ Res*, 2007, 101: 176-184.
- [19] Zhou M, Xu G, Xie M, et al. TWIK-1 and TREK-1 are potassium channels contributing significantly to astrocyte passive conductance in rat hippocampal slices [J]. *J Neurosci*, 2009, 29: 8551-8564.
- [20] Yin X, Su B, Zhang H, et al. TREK-1 activation mediates spinal cord ischemic tolerance induced by isoflurane preconditioning in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 515: 115-120.
- [21] Lauritzen I, Blondeau N, Heurteaux C, et al. Polyunsaturated fatty acids are potent neuroprotectors [J]. *EMBO J*, 2014, 19: 1784-1793.
- [22] Tarasov MV, Kotova PD, Bystrova MF, et al. Arachidonic acid hyperpolarizes mesenchymal stromal cells from the human adipose tissue by stimulating TREK1 K⁺ channels [J]. *Channels (Austin)*, 2019, 13: 36-47.
- [23] Lamas JA, Fernández-Fernández D. Tandem pore TWIK-related potassium channels and neuroprotection [J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14: 1293-1308.
- [24] Duprat F, Lesage F, Patel AJ, et al. The neuroprotective agent riluzole activates the two P domain K⁺ channels TREK-1 and TRAAK [J]. *Mol Pharmacol*, 2000, 57: 906-912.
- [25] Gruss M, Bushell TJ, Bright DP, et al. Two-pore-domain K⁺ channels are a novel target for the anesthetic gases xenon, nitrous oxide, and cyclopropane [J]. *Mol Pharmacol*, 2004, 65: 443-452.
- [26] Heurteaux C, Guy N, Laigle C, et al. TREK-1, a K⁺ channel involved in neuroprotection and general anesthesia [J]. *EMBO J*, 2004, 23: 2684-2695.
- [27] Li ZB, Zhang HX, Li LL, et al. Enhanced expressions of arachidonic acid-sensitive tandem-pore domain potassium channels in rat experimental acute cerebral ischemia [J]. *Biochem Biophys*

- Res Commun, 2005, 327: 1163-1169.
- [28] Ji XC, Zhao WH, Cao DX, et al. Novel neuroprotectant chiral 3-*n*-butylphthalide inhibits tandem-pore-domain potassium channel TREK-1 [J]. Acta Pharmacol Sin, 2011, 32: 182-187.
- [29] Wang W, Liu D, Xiao Q, et al. Lig4-4 selectively inhibits TREK-1 and plays potent neuroprotective roles *in vitro* and in rat MCAO model [J]. Neurosci Lett, 2018, 671: 93-98.
- [30] Kennard LE, Chumbley JR, Ranatunga KM, et al. Inhibition of the human two-pore domain potassium channel, TREK-1, by fluoxetine and its metabolite norfluoxetine [J]. Br J Pharmacol, 2005, 144: 821-829.
- [31] Mazella J, Petrault O, Lucas G, et al. Spadin, a sortilin-derived peptide, targeting rodent TREK-1 channels: a new concept in the antidepressant drug design [J]. PLoS Biology, 2010, 8: e1000355.
- [32] Meadows HJ, Chapman CG, Duckworth DM, et al. The neuroprotective agent sipatrigine (BW619C89) potently inhibits the human tandem pore-domain K⁺ channels TREK-1 and TRAAK [J]. Brain Res, 2001, 892: 94-101.
- [33] Lu L, Wang W, Peng Y, et al. Electrophysiology and pharmacology of tandem domain potassium channel TREK-1 related BDNF synthesis in rat astrocytes [J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2014, 387: 303-312.
- [34] Fang Y, Tian Y, Huang Q, et al. Deficiency of TREK-1 potassium channel exacerbates blood-brain barrier damage and neuroinflammation after intracerebral hemorrhage in mice [J]. J Neuroinflammation, 2019, 16: 96.
- [35] Fang Y, Huang X, Wan Y, et al. Deficiency of TREK-1 potassium channel exacerbates secondary injury following spinal cord injury in mice [J]. J Neurochem, 2017, 141: 236-246.
- [36] Bittner S, Ruck T, Fernández-Orth J, et al. TREK-king the blood-brain-barrier [J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2014, 9: 293-301.
- [37] Bittner S, Ruck T, Schuhmann MK, et al. Endothelial TWIK-related potassium channel-1 (TREK1) regulates immune-cell trafficking into the CNS [J]. Nat Med, 2013, 19: 1161-1165.
- [38] Wu X, Liu Y, Chen X, et al. Involvement of TREK-1 activity in astrocyte function and neuroprotection under simulated ischemia conditions [J]. J Mol Neurosci, 2013, 49: 499-506.
- [39] Zhang M, Yin HJ, Wang WP, et al. Over-expressed human TREK-1 inhibits CHO cell proliferation *via* inhibiting PKA and p38 MAPK pathways and subsequently inducing G1 arrest [J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37: 1190-1198.
- [40] Hervieu GJ, Cluderay JE, Gray CW, et al. Distribution and expression of TREK-1, a two-pore-domain potassium channel, in the adult rat CNS [J]. Neuroscience, 2001, 103: 899-919.
- [41] Lamas JA. Mechanosensitive K₂P channels, TREKking through the autonomic nervous system [M]//Kamkin A, Lozinsky I, editors. Mechanically Gated Channels and Their Regulation. Dordrecht, Netherlands: Springer Science + Business Media, 2012: 35-68.
- [42] Dey D, Eckle VS, Vitko I, et al. A potassium leak channel silences hyperactive neurons and ameliorates status epilepticus [J]. Epilepsia, 2014, 55: 203-213.
- [43] Harinath S, Sikdar SK. Inhibition of human TREK-1 channels by caffeine and theophylline [J]. Epilepsy Res, 2005, 64: 127-135.
- [44] Heurteaux C, Lucas G, Guy N, et al. Deletion of the background potassium channel TREK-1 results in a depression-resistant phenotype [J]. Nat Neurosci, 2006, 9: 1134-1141.
- [45] Hirano K, Kimura R, Sugimoto Y, et al. Relationship between brain serotonin transporter binding, plasma concentration and behavioural effect of selective serotonin reuptake inhibitors [J]. Br J Pharmacol, 2005, 144: 695-702.
- [46] Kim A, Jung HG, Kim YE, et al. The knockdown of TREK-1 in hippocampal neurons attenuate lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20: 5902.
- [47] Ma R, Lewis A. Spadin selectively antagonizes arachidonic acid activation of TREK-1 channels [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 434.
- [48] Djillani A, Pietri M, Moreno S, et al. Shortened Spadin analogs display better TREK-1 inhibition, *in vivo* stability and antidepressant activity [J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 643.
- [49] Lin DH, Zhang XR, Ye DQ, et al. The role of the two-pore domain potassium channel TREK-1 in the therapeutic effects of escitalopram in a rat model of poststroke depression [J]. CNS Neurosci Ther, 2015, 21: 504-512.
- [50] Patel AJ, Honoré E, Lesage F, et al. Inhalational anesthetics activate two-pore-domain background K⁺ channels [J]. Nat Neurosci, 1999, 2: 422-426.
- [51] Terrenoire C, Lauritzen I, Lesage F, et al. A TREK-1-like potassium channel in atrial cells inhibited by beta-adrenergic stimulation and activated by volatile anesthetics [J]. Circ Res, 2001, 89: 336-342.
- [52] Winslow SG, Gerstner HB. Health aspects of chloroform [J]. Drug Chem Toxicol, 1978, 1: 259-275.
- [53] Maingret F, Lauritzen I, Patel AJ, et al. TREK-1 is a heat-activated background K⁺ channel [J]. EMBO J, 2000, 19: 2483-2491.
- [54] Berman RM, Cappiello A, Anand A, et al. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients [J]. Biol Psychiatry, 2000, 47: 351-354.
- [55] Hong Z, Wang DS, Li JS. Etomidate activation commissural nucleus neurons after rat sacral spinal GABAA gating chloride channel currents [J]. China J Neurosci, 2004, 20: 266-269.
- [56] Takahira M, Sakurai M, Sakurada N, et al. Fenamates and diltiazem modulate lipid-sensitive mechano-gated 2P domain K⁺ channels [J]. Eur J Physiol, 2005, 451: 474-478.
- [57] Veale EL, Al-Moubarak E, Bajaria N, et al. Influence of the N terminus on the biophysical properties and pharmacology of TREK1 potassium channels [J]. Mol Pharmacol, 2014, 85: 671-681.

- [58] Poulin H, Theriault O, Beaulieu MJ, et al. Fluoxetine blocks NaV1.5 channels *via* a mechanism similar to that of class 1 antiarrhythmics [J]. *Mol Pharmacol*, 2014, 86: 378-389.
- [59] Voloshyna I, Besana A, Castillo M, et al. TREK-1 is a novel molecular target in prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 1197-1203.
- [60] Ma S, Xu S, Liu B, et al. Long-term treatment of 1-3-*n*-butylphthalide attenuated neurodegenerative changes in aged rats [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2009, 379: 565-574.
- [61] Veysiere J, Moha Ou Maati H, Mazella J, et al. Retroinverso analogs of spadin display increased antidepressant effects [J]. *Psychopharmacology*, 2015, 232: 561-574.
- [62] Mazella J, Borsotto M, Heurteaux C. The involvement of Sortilin/NTSR3 in depression as the progenitor of Spadin and its role in the membrane expression of TREK-1 [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 9: 1541.
- [63] Ye D, Li Y, Zhang X, et al. TREK1 channel blockade induces an antidepressant-like response synergizing with 5-HT1A receptor signaling [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2015, 25: 2426-2436.
- [64] Tertyshnikova S, Knox RJ, Plym MJ, et al. BL-1249 [(5,6,7,8-tetrahydro-naphthalen-1-yl)-[2-(1*H*-tetrazol-5-yl)-phenyl]-amine]: a putative potassium channel opener with bladder-relaxant properties [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 313: 250-259.
- [65] Liu H, Enyeart JA, Enyeart JJ. Potent inhibition of native TREK-1 K⁺ channels by selected dihydropyridine Ca²⁺ channel antagonists [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 323: 39-48.
- [66] Bagriantsev SN, Ang KH, Gallardo-Godoy A, et al. A high-throughput functional screen identifies small molecule regulators of temperature- and mechano-sensitive K₂P channels [J]. *ACS Chem Biol*, 2013, 8: 1841-1851.
- [67] Lolicato M, Arrigoni C, Mori T, et al. K(2P)2.1 (TREK-1)-activator complexes reveal a cryptic selectivity filter binding site [J]. *Nature*, 2017, 547: 364-368.