



多不饱和脂肪酸对钾通道的调控作用及机理*

孙雨蕉¹⁾ 常超²⁾ 吴振华²⁾ 张艺扉^{1,3)**} 田裕涛^{1,3)**}

¹⁾ 天津大学医学工程与转化医学研究院, 天津 300072; ²⁾ 天津大学胸科医院心脏外科重症监护室, 天津 300051;

³⁾ 天津市脑科学与神经工程重点实验室, 天津 300072)

摘要 多不饱和脂肪酸具有包括离子通道在内的众多作用靶点, 通过作用于这些靶点, 可以有效保护免疫系统、神经系统和心血管系统的功能, 在一定程度上保护人体健康。电压门控钾离子通道家族 K_v 7通道和大电导钙离子激活的钾离子通道(BK_{Ca})广泛表达于机体的各类组织中, 具有重要的生理或病理功能。本综述围绕 K_v 7和 BK_{Ca} 通道, 根据对已有报道的汇总, 多不饱和脂肪酸可以增大 K_v 7和 BK_{Ca} 通道的电流幅值, 其中对 K_v 7通道电流的影响主要是改变其电压依赖特性和最大电导值, 而对 BK_{Ca} 通道电流的影响主要是改变其孔道区域关闭态的构象。此外, 多不饱和脂肪酸对 K_v 7和 BK_{Ca} 通道功能的调节也会受到共表达的辅助亚基影响, 但相关机制有待进一步阐明。深入理解多不饱和脂肪酸对 K_v 7和 BK_{Ca} 通道调节作用效果和分子机制, 有助于全面理解 K_v 7和 BK_{Ca} 通道的生理意义, 并为相关疾病诊疗策略研究提供新的前景。

关键词 多不饱和脂肪酸, K_v 7通道, BK_{Ca} 通道, 脂类分子, 通道门控

中图分类号 Q4, Q6, Q71

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0032

脂类物质是生物体内一类重要的生物分子, 包括脂肪酸 (fatty acid, FA)、甘油脂质 (glycerolipids, GL)、甘油磷脂 (glycerophospholipids, GP) 等^[1]。在过去的几十年里, 不同类型的脂肪酸因其在健康和疾病方面的多种功能而受到人们的关注。其中多不饱和脂肪酸 (poly-unsaturated fatty acid, PUFA) 是日常膳食中重要的营养成分, 已有相关研究表明, 提高日常多不饱和脂肪酸的摄入可带来诸多益处, 例如可增强免疫系统的功能以及降低心脑血管疾病发生风险等^[2], 但其中的作用机制尚未被完全阐明。也有部分临床研究揭示, 膳食摄入的外源性和体内的内源性多不饱和脂肪酸水平或异常代谢与诸多疾病相关, 例如在阿尔茨海默病、抑郁症和孤独症患者中均发现明显的多不饱和脂肪酸代谢异常^[2]。这些结果表明, 除了作为营养元素外, 内源性多不饱和脂肪酸对维持各类细胞的正常功能也尤为重要, 且不同的多不饱和脂肪酸可能存在差异化的作用形式。

离子通道作为广泛分布于机体各类细胞膜表面的孔道蛋白, 可选择性通透 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 和 Cl^- 等

离子, 并通过门控过程调节不同状态下对各类离子的通透程度, 进而调节细胞的离子稳态、兴奋性以及细胞器功能等一系列细胞活动^[3]。其中, 钾离子通道作为分布最广、亚型最多的一类离子通道, 在调节兴奋性细胞的静息膜电位与动作电位中起到重要作用。钾离子通道有不同的分类方式和命名方法。根据结构和生理特性, 可把钾离子通道分为: 电压门控钾离子通道 (voltage-dependent potassium channel, K_v)、钙离子激活的钾离子通道 (Ca^{2+} activated potassium channel, K_{Ca})、内向整流钾离子通道 (inwardly rectifying potassium channel, K_{ir}) 和串联孔域钾离子通道 (tandem pore domain potassium channels, K_2P) 等几类, 其中 K_{Ca} 通道由于其电压敏感特性, 也可归类为 K_v 通道家族。钾离子通道门控过程受到如细胞膜电位、内源性配

* 国家自然科学基金 (32071103, 32100726, 82001420) 和天津市教委科研计划 (2022YGYB10) 资助项目。

** 通讯联系人。

田裕涛 Tel: 022-83612122, E-mail: yutao.tian@tju.edu.cn

张艺扉 Tel: 022-83612122, E-mail: zhangyf19@tju.edu.cn

收稿日期: 2023-02-05, 接受日期: 2023-04-18

体分子和外源性药物分子等多种形式的调控,在相应的生理和病理状态下产生相应的调控效应^[4]。游离脂肪酸分子可作为细胞内的信号分子或膜磷脂的组成部分行使一系列生理功能,调控生命活动。不同的脂肪酸分子作为信号分子可与细胞膜表面的GPR40、GPR120和GPR43等多种受体结合,激活G蛋白偶联信号通路,参与各类生理过程^[5]。近年来,越来越多的研究表明,除G蛋白偶联受体外,脂肪酸分子可与钾离子通道产生直接相互作用,调节钾离子通道门控过程,进而在心血管系统、神经系统或免疫系统中对一系列重要生理功能发挥作用^[6-8]。

钾离子通道作为多不饱和脂肪酸的作用靶点,受到越来越多研究者的关注,寻找多不饱和脂肪酸在离子通道上的结合位点、认识并理解多不饱和脂肪酸与离子通道之间的相互作用形式以及门控调节的分子机制,对生理学、病理学以及药物开发均具有重要意义。随着结构生物学、计算生物学和分子动力学模拟技术的发展,对部分钾离子通道和多不饱和脂肪酸之间相互作用形式的解析已达到近原子水平。本文将重点针对近年来的研究成果,聚焦多不饱和脂肪酸通过直接作用对钾离子通道的调控形式、分子机制和生物物理机制进行总结,以期对未来多不饱和脂肪酸调控钾离子通道的研究提供一定助力。

1 多不饱和脂肪酸的化学特性和生理作用

脂肪酸分子主要由一个极性的羧酸头部以及具有疏水特性的脂肪族碳链尾部所构成。根据碳链尾部所包含的不饱和碳-碳双键的数量,脂肪酸分子可以分为:全部为碳-碳单键的饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)、仅含有一个碳-碳双键的单不饱和脂肪酸(mono-unsaturated fatty acid, MUFA),以及含有两个及以上碳-碳双键的多不饱和脂肪酸(poly-unsaturated fatty acid, PUFA)^[9]。

多不饱和脂肪酸可根据尾部碳链所含碳原子和双键的数目来命名。例如,参与诸多生命活动调节的花生四烯酸(arachidonic acid, AA)为尾部含有4个不饱和双键的20碳烯烃,可写作20:4。多不饱和脂肪酸的另一种分类与命名方式,是依据自甲基末端起,第一个不饱和双键出现的碳原子位置是第3位或第6位,可分为 ω -3和 ω -6不饱和脂肪酸(图1a)。花生四烯酸是人体内最重要的 ω -6不饱和脂肪酸。此外,人们所熟知的二十二碳六烯酸——

DHA(docosahexaenoic acid, 22:6)和二十碳五烯酸——EPA(eicosapentaenoic acid, 20:5)是具有重要生理功能的 ω -3不饱和脂肪酸。

根据多不饱和脂肪酸在化学结构上的特点,使其具有一系列理化特性。a.羧酸头部具有弱酸性,其质子化程度的差异决定多不饱和脂肪酸携带正电或不带电。一些研究显示,多不饱和脂肪酸羧酸头部的 pK_a 约为7.4,因此在生理pH下,约50%的羧酸基团为去质子化状态,携带正电荷^[10-11]。环境pH的变化将会改变羧酸基团的带电特性,影响多不饱和脂肪酸对离子通道的调控效果(下文详述)。b.尾部的碳-碳不饱和双键使得双键两侧的原子的存在顺式(cis-)和反式(trans-)构型的差异,这是多不饱和脂肪酸显著区别于饱和脂肪酸的特点^[12]。多不饱和脂肪酸尾部的多个顺式双键可以使其尾部的形状发生弯折并衍生出不同的几何构象。因此,尾部碳链长短、不饱和双键的数量和位置会对多不饱和脂肪酸与离子通道的结合和调控效果产生影响(下文详述)。

人体内的各种多不饱和脂肪酸可通过日常膳食摄入以及体内合成获得。其中 α -亚麻酸(α -linoleic acid, ALA, 18:3, ω -3)和亚麻酸(linoleic acid, LA, 18:2, ω -6)为必需脂肪酸,无法从头合成,只能经由膳食摄入,而其他的多不饱和脂肪酸可经由体内的脂肪酸延长、还原等反应进行合成(图1c)^[13-14]。根据现有报道,在生理状态下游离的多不饱和脂肪酸在体液环境(血浆、血清、脑脊液等)中的浓度为10~50 μ mol/L,在增加膳食补充或营养补剂等条件下,体内的游离脂肪酸浓度会进一步升高^[15-17]。

细胞内多不饱和脂肪酸的另一个来源是细胞膜中磷脂水解后释放的游离脂肪酸。典型细胞膜的磷脂中,脂肪酸的羧酸头部通过酯键和甘油分子相连接,甘油分子的首位碳原子(sn-1)一般连接一个饱和脂肪酸,第二位碳原子(sn-2)则主要连接一个不饱和脂肪酸(MUFA或多不饱和脂肪酸),其中AA和DHA是连接在sn-2位的主要多不饱和脂肪酸。通过磷脂酶 A_2 的作用,可以将sn-2位的脂肪酸水解,释放为游离脂肪酸。已有研究表明,不同类型的磷脂酶 A_2 (phospholipase A_2 , PLA $_2$)可以和部分G蛋白耦联受体(例如:5-羟色胺受体、缓激肽受体、食欲素受体等)相结合^[18-20]。在受到细胞外激素、递质等配体分子激活后,G蛋白耦联受体可特异性地激活细胞内的PLA $_2$,进而利用

PLA₂选择性水解多不饱和脂肪酸。例如 iPLA₂水解 DHA, cPLA₂水解 AA^[21]。这些多不饱和脂肪酸被

水解释放后, 可以直接沿细胞质膜扩散, 结合作用于离子通道蛋白(图 1b)。

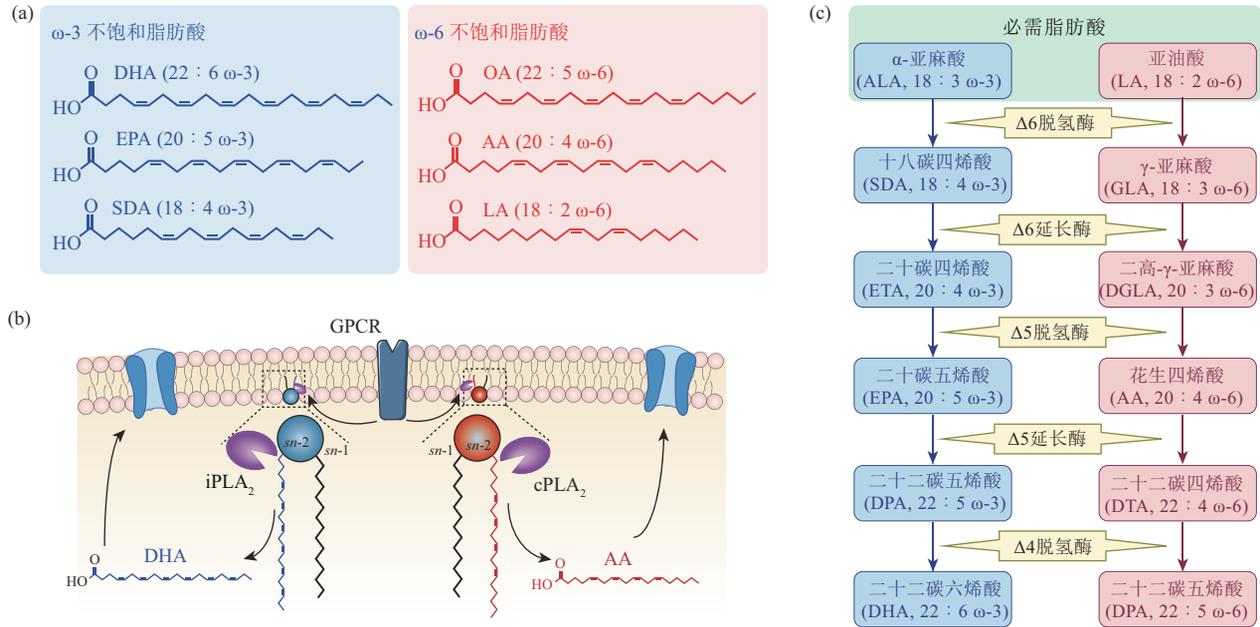


Fig. 1 Main types and metabolic pathways of polyunsaturated fatty acids

图1 多不饱和脂肪酸的主要种类及代谢途径

(a) ω-3和ω-6不饱和脂肪酸结构示意图; (b) ω-3和ω-6不饱和脂肪酸主要水解途径; (c) ω-3和ω-6不饱和脂肪酸体内的合成路径。

随着研究的深入, 人们发现多不饱和脂肪酸在人体各系统中起着重要的生理调节功能。在神经系统中, 多不饱和脂肪酸参与了涉及神经元和神经胶质细胞的多样化过程, 它促进神经元增值和分化, 还通过促进轴突生长和突触形成促进突触传递^[22-23]。在心血管系统中, 多不饱和脂肪酸通过改变细胞膜物理化学性质、调控膜通道和蛋白质的直接相互作用等方式影响着心血管系统的功能, 具有改善血管和心脏血流动力学、降低血浆甘油三酯的作用^[24-26]。在免疫系统中, 多不饱和脂肪酸的具体作用机制与细胞类型有关。例如, 多不饱和脂肪酸可调节巨噬细胞中细胞因子的产生和分泌, 抑制中性粒细胞的迁移和活性氧的产生^[27-30]。除此之外, 多不饱和脂肪酸还有助于保护胃肠道黏膜、调节胰岛素的分泌、促进骨骼发育和维护骨密度等^[31]。

总之, 多不饱和脂肪酸通过膳食摄入或者自身合成等方式存在于生物体内, 并以其独特的形式参与体内不同种类细胞活动的调控。多不饱和脂肪酸主要通过改变目标通道的电导、门控动力学特征等

方式调节通道功能^[32], 其对钾离子通道的影响已有多篇优秀综述, 但更为详尽的作用靶点与分子机制解析一直是研究的难点, 这大大影响了关于多不饱和脂肪酸的靶向机制研究。其中, 多不饱和脂肪酸调控K_v7通道和BK_{Ca}通道的分子机制近年来已形成较为系统的研究, 其研究的技术路线和方法值得借鉴到其他钾离子通道的研究过程中。因此本文将聚焦于多不饱和脂肪酸对钾离子通道的直接调控作用, 重点针对近些年K_v7和BK_{Ca}通道关于调控形式、分子机制和生物物理机制等方面的研究成果进行总结。

2 多不饱和脂肪酸对K_v7通道的调控及分子机制

2.1 K_v7通道的生理病理功能和基本结构

K_v7是电压门控钾离子通道家族中的成员, 其通道电流具有缓慢激活以及慢速延迟整流特征。K_v7亚家族包含5个不同成员, 分别为K_v7.1~K_v7.5, 不同K_v7通道的表达具有组织和细胞差异

性,且具有不同的生理功能。 $K_v7.1$ 主要分布于心肌细胞,是心肌细胞中产生慢速延迟整流钾电流(slow IK)的主要通道,参与心肌细胞动作电位的复极化过程,特别是在机体需要额外的复极化电流,尤其是在高交感张力状态下,通道被激活^[33];同时,内耳中内淋巴细胞所表达的 $K_v7.1$ 通道,参与维持细胞中钾离子浓度的平衡^[34]。 $K_v7.2$ 和 $K_v7.3$ 可组装为异源四聚体,是神经系统中M电流的分子基础,对于稳定神经元的静息电位具有重要作用,并参与神经元兴奋性的调节^[35]。 $K_v7.4$ 通道在内耳淋巴细胞中与 $K_v7.1$ 一起参与维持细胞的离子平衡^[36];同时,平滑肌细胞中的 $K_v7.4$ 通道也参与维持静息电位^[37-39]。 $K_v7.5$ 在神经系统和平滑肌中与其他 K_v7 蛋白形成异源四聚体发挥生理功能^[38, 40-41]。由于 K_v7 通道表达广泛并参与众多生理功能, K_v7 通道的功能失常通常会导致一些疾病的发生。 K_v7 通道的功能丧失性突变可能导致心律失常、心室颤动和猝死,而功能获得性突变则可能导致短QT综合征或心房颤动^[42]。 K_v7 通道的突变可能会降低通道的电压敏感性,导致通道的开放概率降低、闭合动力学增加,从而增加神经元的兴奋性,导致癫痫的发生^[43-44]。此外, $K_v7.4$ 介导的K电导在声音感应细胞的复极化过程中起关键作用, $K_v7.1$ 通道的功能性丧失突变与人类先天性耳聋有关^[36, 45]。因此,研究相关化合物对 K_v7 通道的调节作用及分子机制或许对 K_v7 通道相关疾病的治疗具有重要帮助。

K_v7 通道由 $kcnq$ 基因编码,每个 $kcnq$ 基因编码1个亚基,4个亚基组成同源或异源四聚体,形成具有功能的 K_v7 通道^[41, 46-47]。一个典型的 K_v7 通道亚基包括6个 α 螺旋跨膜片段(S1~S6)和胞内的N端和C端^[48-49],4个亚基的S5~S6组成中心孔道区域(pore domain, PD),S1~S4片段位于中心孔道区域外侧,为电压敏感结构域(voltage sensitive domain, VSD)(图2a)^[50]。2017年,Mackinnon研究组^[50]解析了 $K_v7.1$ 结构;2021年,郭江涛组和阳怀宇组^[51]合作解析了 $K_v7.2$ 通道的结构(图2b)。 K_v7 通道的晶体结构揭示了 K_v7 通道的PD和VSD存在结构域交叉,VSD和相邻亚基的PD紧邻在一起, K_v7 通过沿着VSD中S4片段排布的带有正电荷的精氨酸(Arg, R)感受细胞膜电位的变化^[49]。当细胞膜发生去极化时,S4片段从细胞膜的底端向上移动^[52-54],S4片段的移动触发PD区域

的S6片段组成的门的开放,进而开放 K_v7 的孔道区域^[55-56]。细胞内、外的各种配体,或者辅助亚基蛋白,通过影响S4的移动、通道门的开放,以及两者之间的相互耦合,进而调节 K_v7 通道的激活^[45]。

2.2 多不饱和脂肪酸对 K_v7 通道的调节作用

目前,已有多个研究组在体外同源或异源表达系统中系统研究了多不饱和脂肪酸对 K_v7 通道家族成员的调控作用。这些研究主要通过向细胞外急性施加多不饱和脂肪酸(DHA、EPA、AA、ALA或LA)展开研究,结果表明它们大多可在几分钟内达到最大效果^[11, 57-59],这表明多不饱和脂肪酸通过直接作用于 K_v7 通道的方式影响 K_v7 通道的功能。

多不饱和脂肪酸对 K_v7 通道家族成员具有较为复杂的调控效果。其中最为明确的调控效果是,在接近静息电位的负电压范围内,多不饱和脂肪酸可以明显地增大 $K_v7.1$ 通道和 $K_v7.5$ 通道的同源四聚体或者 $K_v7.2+7.3$ 异源四聚体的电流幅值^[11, 58, 60]。除电流幅值之外,也有一部分报道表明,多不饱和脂肪酸还可以改变 K_v7 通道的电压依赖激活特性,表现为使 K_v7 通道的电导-电压关系曲线(G-V曲线)向复极化方向移动^[11, 57-58, 60]。但在DHA作用下 $K_v7.4$ 出现了与上述相反的效果, $K_v7.4$ 通道的G-V曲线出现了向超极化方向移动的现象,并伴随电流幅度的下降^[60]。此外也有研究结果表明,即使在刺激电压达到最高, K_v7 通道开放概率达到最大时,多不饱和脂肪酸仍可以增加 K_v7 通道的最大电导^[59]。移动电压门控通道的G-V曲线和增大通道的最大电导,可以使得 K_v7 通道电流在各个电压范围内增大(图2d)。

在现有的研究中,一般 $7\ \mu\text{mol/L}$ 或更高浓度的多不饱和脂肪酸可显著改变 K_v7 通道的功能。但值得注意的是,前期的一些研究主要是在生理活动范围以外即更加去极化的电压区间内测得的,所以还应谨慎评估多不饱和脂肪酸对电流幅值的实际生理意义。但由于多不饱和脂肪酸普遍改变了 K_v7 通道的电压依赖特性(V_{half} 左移),因此在更接近静息电位水平的电压范围内,其电流也会相应增加。近年来的一些研究,在与生理状态更为相关的复极化的电压条件下,观测到添加多不饱和脂肪酸使电流幅值增大的现象^[11, 57-58]。

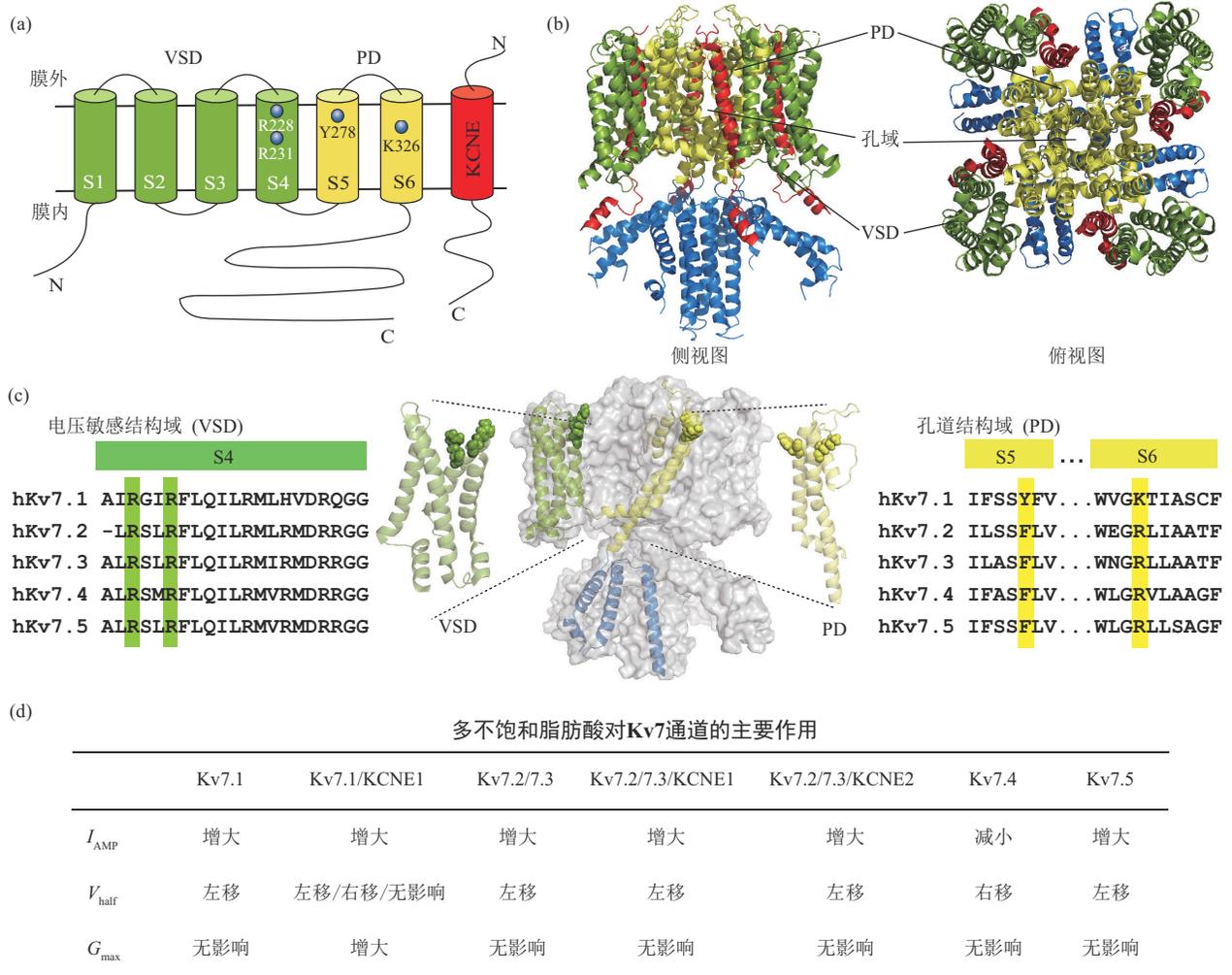


Fig. 2 Crystal structure of Kv7 channel, binding sites of poly-unsaturated fatty acids to Kv7 channel and their effects on channel current

图2 Kv7通道晶体结构、多不饱和脂肪酸与Kv7通道结合位点及对通道电流的影响

(a) Kv7蛋白 α 亚基的拓扑结构; (b) Kv7通道蛋白的结构示意 (PDB: 6V00); (c) Kv7通道上多不饱和脂肪酸作用的关键位点, hKv7.1 (UI: P51787)、hKv7.2 (UI: O43526)、hKv7.3 (UI: O43525)、hKv7.4 (UI: P56696)、hKv7.5 (UI: Q9NR82); (d) 多不饱和脂肪酸对Kv7通道电流幅值 (I_{AMP})、半激活电压 (V_{half})、最大电导 (G_{max}) 的影响。

2.3 多不饱和脂肪酸调控Kv7通道的作用靶点和分子机制

对于多不饱和脂肪酸与Kv7通道相互作用的分子机制, 较为深入的工作主要是在Kv7.1通道上开展。目前已明确的Kv7.1通道上两个主要的多不饱和脂肪酸作用位点为“S4位点”和“S6位点”。

作为电压门控钾离子通道, Kv7.1通道S4跨膜片段中顺次排布了多个携带正电荷的精氨酸。当细胞膜电位发生去极化时, 通道蛋白通过这些精氨酸感受膜电位的变化, 带动S4螺旋向上移动, 进而带动孔道区域的构象变化^[11, 61]。通过将Kv7.1通道

S4片段中顶部的两个精氨酸位点R228和R231突变为不带电荷的谷氨酰胺(Q), 既影响了多不饱和脂肪酸与Kv7.1通道的结合, 同时也显著降低由多不饱和脂肪酸引起的 V_{half} 移动(图2c)^[11, 61-62]。另一方面, 通过增加溶液pH值, 使得多不饱和脂肪酸头部去质子化, 显著增加羧酸头部的极性, 或者施加头部极性更强的多不饱和脂肪酸类似物(DHA-Gly或AA-aurine), 均可显著增强多不饱和脂肪酸调控Kv7.1通道电压依赖特性的能力^[63]。这些结果可以有效表明, 多不饱和脂肪酸中带有负电的羧酸头部结合于胞质外膜一侧, 与S4片段顶端

带有正电荷的精氨酸形成静电相互作用,使得 $K_v7.1$ 通道的电压敏感结构域在膜电位发生去极化时向上移动发生易化,使得电压敏感性增强,改变了电压激活曲线。这一机制在电压钳结合荧光测定中得到进一步证实,通过突变S3-S4上G219C或K218C可产生随VSD移动而变化的荧光信号变化,表征多不饱和脂肪酸可以易化VSD结构域的移动^[11, 61]。对于相对特异的 $K_v7.4$ 通道,通过实验和分子动力学模拟发现,这种差异与 $K_v7.4$ 通道的S4下半部分的3个精氨酸(R213、R216和R219)有关,DHA通过与S4下半部分的精氨酸相互作用来稳定S4的静止或中间状态,从而抑制通道开放。多不饱和脂肪酸可以通过自身头部负电荷和S4片段上的带电氨基酸发生相互作用,并通过极性的强弱调控这种作用,最终影响通道开放过程的后期阶段,发挥门控调节的作用^[60]。

在对S4位点进行突变后,虽然有效消除了多不饱和脂肪酸对 $K_v7.1$ 通道 V_{half} 的移动,但依然保留其提升 $K_v7.1$ 通道最大电导的影响,这一现象表明,除S4作用位点外,还存在一个多不饱和脂肪酸的作用位点^[62]。进一步有研究通过定点突变实验发现,将S6片段上的K326位点侧链所携带的正电荷移除之后,这种对最大电导(G_{max})的影响完全消失。多不饱和脂肪酸和K326之间也会形成正负电荷间的静电相互作用(图2c)。结合分子动力学模拟研究,发现在多不饱和脂肪酸的羧基头部和K326相互作用后,可以改变模拟体系中 $K_v7.1$ 通道离子孔道结构域和相邻选择性滤器的构象变化。这一构象变化将促进钾离子通透性的增加,这也是多不饱和脂肪酸增大 $K_v7.1$ 电导的机制。此外,通过分子对接和分子动力学模拟,并经实验验证,研究人员还发现,除S4和S6上带正电荷的位点外,S5片段上的Y278可以通过氢键和多不饱和脂肪酸发生相互作用,对多不饱和脂肪酸进入结合区域发挥关键作用^[64]。这些研究表明,多不饱和脂肪酸作用于 $K_v7.1$ 的多个独立位点。相近的位点在 $K_v7.2$ 和 $K_v7.3$ 上也可以观察到^[59]。

多不饱和脂肪酸对 K_v7 通道功能的调控,还依赖于多不饱和脂肪酸结构的差异^[59, 62, 65]。Liin研究组和Larsson研究组^[59]的多项合作研究表明,多不饱和脂肪酸的头基是影响其效果的关键基团,通过将羧基基团替换为牛磺酸、半胱氨酸、甘氨酸和天冬氨酸可获得具有差异性激活效果的多不饱和脂肪酸类似物。在他们最新的工作中,进一步合成了

具有巨大芳香环的酪氨酸头基多不饱和脂肪酸类似物,通过同时作用于多个效应位点,获得更为显著的激活效应^[65]。这为以多不饱和脂肪酸为前体分子进行针对长QT综合征药物的开发具有重要的现实意义。

2.4 KCNE辅助亚基对多不饱和脂肪酸作用的调节

除由*kcnq*基因编码的主亚基外, K_v7 家族通道还会和辅助亚基共表达。辅助亚基能够调控 K_v7 通道的表达、门控等生物物理学特性。 K_v7 通道的辅助亚基由*kcne*基因编码,表达KCNE1-5蛋白。生物化学和电生理功能实验显示,KCNE辅助亚基具有单跨膜结构,在空间上主要临近 K_v7 通道的VSD结构域,可与 K_v7 通道形成直接的相互作用。Sun和Mackinnon^[66]于2020年解析获得KCNE与KCNQ通道所组成复合体的晶体结构,该结构揭示,在跨膜界面处,KCNE3亚基嵌入由3个KCNQ1亚基形成的裂缝中。KCNE亚基和 K_v7 通道在多种细胞或组织中均有共定位和共表达,进一步阐释KCNE共表达如何影响多不饱和脂肪酸对 K_v7 通道的调节效果具有重要的生理意义。

现有的一些研究提示,当 $K_v7.1$ 和KCNE1共表达时会影响多不饱和脂肪酸的调节作用,但关于KCNE1的调节效果存在并不一致的结论。Doolan等^[67]的研究显示,20 $\mu\text{mol/L}$ 的DHA可以有效增大 $K_v7.1$ +KCNE1复合体的电流,但无法改变仅由 $K_v7.1$ 组成的通道电流,这表明对于DHA引起的 $K_v7.1$ 通道电流幅值的增加,KCNE1是必要的成分。而同属于n-3不饱和脂肪酸的EPA主要减慢了 $K_v7.1$ +KCNE1的激活动力学特征,并未对电流幅值产生影响^[57]。与之相反,Liin等^[11, 58]的研究则表明,当施加7 $\mu\text{mol/L}$ 或更高浓度的DHA后,可以使得 $K_v7.1$ 的 V_{half} 向复极化方向移动,但当KCNE1与 $K_v7.1$ 共表达时,KCNE1的存在会在很大程度上削减DHA对 V_{half} 的效果。同时,在Liin的研究中,当 $K_v7.1$ 和KCNE1共表达时,DHA可导致最大电导 G_{max} 的增大^[58]。此外,还有研究表明,20 $\mu\text{mol/L}$ DHA或EPA可以显著增加 $K_v7.1$ +KCNE1的电流并使 V_{half} 向复极化方向移动,但是在 $K_v7.1$ 通道上,EPA并未显现任何效果^[57]。目前的研究并未能完全揭示导致上述差异化作用的分子机制,根据已有的结果推测,其原因一方面可能是通道表达系统的差异,在已有研究中,爪蟾卵母细胞表达系统中一般需要更高浓度多不饱和脂肪酸才能

激活通道^[68], 这可能与爪蟾细胞和哺乳动物细胞(HEK细胞系、COS7细胞系等)的细胞膜脂环境、脂类代谢等方面具有较大差异有关, 另一方面可能是多不饱和脂肪酸的施加方式带来的差异, 相较于单次施加, 持续灌流DHA等多不饱和脂肪酸往往会使电流幅值增大得更显著^[11, 59]。除 $K_v7.1$ 外, 当KCNE1/KCNE2与 $K_v7.2/K_v7.3$ 共表达的时候, 则无法进一步影响DHA对 V_{half} 的作用。

3 多不饱和脂肪酸对BK_{Ca}通道的调控及分子机制

3.1 BK_{Ca}通道的生理病理功能和基本结构

BK_{Ca}通道, 也可称为Slo1, K_{Ca}1.1或maxiK通道, 是钾离子通道家族中较为特殊的成员, 其显著特征是电导值>100 pS (通常为250~300 pS)^[69], 以及具有细胞内钙离子结合域, 可以因细胞内钙离子浓度升高和/或细胞膜电位去极化激活^[70-72]。由于BK_{Ca}通道的电导值显著高于其他钾离子通道, BK_{Ca}通道的打开会导致大量钾离子外排, 从而使细胞膜电位超极化。因此在大多数细胞中, 如神经元、内分泌细胞、平滑肌细胞, 其产生的外向钾离子流可抑制细胞的兴奋性, 进而发挥重要的负反馈调节作用^[73-74]。

通过使用特定的BK_{Ca}通道激动剂/抑制剂或转基因小鼠, 研究人员已鉴定出BK_{Ca}通道在诸多生理或病理状态下发挥重要作用。在生理功能方面, BK_{Ca}通道是参与神经元快速后超极化的重要通道, 广泛分布在中枢神经系统, 调节神经元的放电频率和神经递质的释放^[74]; 在平滑肌细胞中, BK_{Ca}通道的开放会有效降低平滑肌细胞的紧张性, 实现对抗血管性高血压的功能^[75]; 在内分泌细胞中, BK_{Ca}通道则直接参与激素分泌的调控^[76]。除此之外, BK_{Ca}通道还参与肌肉疲劳、心脏节律、昼夜节律以及酒精耐受等诸多生理功能的调控^[74, 77-78]。当BK_{Ca}通道的功能异常时, 则会引发一些病理性改变。在心血管系统中, BK_{Ca}通道的功能障碍会引起膜超极化, 使血管收缩减少和血管松弛, 导致高血压、糖尿病等疾病^[79]; 在神经系统中, BK_{Ca}通道的功能获得性突变体通过加速尖峰复极化和增强动作电位后超极化幅度来促进高频放电, 导致全面性癫痫、阵发性运动障碍^[74]; 与之相反, 在视交叉上核神经元中, BK_{Ca}通道的电流会随着年龄的增长而减弱, 从而使动作电位后超极化幅度减弱, 导致老年人的昼夜节律调节能力下降^[80]。因

此探究BK_{Ca}通道的调节机制、寻找对BK_{Ca}通道具有调节作用的化合物具有重要意义。

BK_{Ca}通道的 α 亚基由单一基因(*kcnma1*, *slo1*)编码, 可通过选择性剪切、转录后翻译以及内源性信号分子的功能性调制调节其功能。根据冷冻电镜解析得到的通道结构, BK_{Ca}通道每一个 α 亚基主要包含3个结构域, 其中跨膜部分由7个跨膜片段(S0~S6)组成。和典型的电压门控钾离子通道类似, BK_{Ca}通道的S1~S4构成负责感受膜电位变化的电压敏感结构域(VSD)^[81], S5-P-S6构成介导钾离子通过的孔道门控结构域(PD), 区别于典型的6跨膜(6TM)钾离子通道, S0片段为BK_{Ca}通道所特有。BK_{Ca}通道的细胞内部分为负责感受细胞二价阳离子(Ca^{2+}/Mg^{2+})的细胞内区域(cytoplasmic domain, CTD)^[82](图3a, b)。

不同于其他钾离子通道典型的交叉束门控方式, BK_{Ca}通道的VSD和PD没有形成结构域交叉, S4~S5之间的连接片段非常短, 不具有K_v通道的S4~S5铰链片段, 因此无法使用交叉束门控。现有的电生理和药理学实验充分证明BK_{Ca}通道是采用选择性滤器门控方式控制通道的开放和关闭^[83-84]。通过精确分析BK_{Ca}通道的开放-关闭参数以及激活-失活动力学参数等电生理数据, Horrigan和Aldrich^[70]提出HA模型(Horrigan-Aldrich model), HA模型通过经典概率模型描述BK_{Ca}通道门控过程的动力学特征, 通过数学模型, 解释了BK_{Ca}通道VSD和CTD与PGD区域间的功能耦合特征, 并在后续的研究中表明其可靠性^[85], 是目前主流的BK_{Ca}通道动力学功能模型(图3f)。结合HA模型, 通过在较大尺度上分析BK_{Ca}通道结构-功能关系, 目前可知PD是BK_{Ca}通道实现选择性滤器门控的核心区域, CTD和VSD通过变构耦合, 易化PD区域的构象变化。即细胞内钙离子浓度和细胞膜去极化水平的提高可以提高BK_{Ca}通道的开放概率, 但二者都不是通道开放的必要条件, BK_{Ca}通道仅通过PD构型变化即可实现通道的开放和关闭状态转换^[86]。

3.2 多不饱和脂肪酸对BK_{Ca}通道的调节作用

BK_{Ca}通道因其具有高电导率, 是各组织中控制静息膜电位的关键通道。由于人血浆中的游离多不饱和脂肪酸浓度在微摩尔每升水平^[87], 所以多数时候正常生理状态下的多不饱和脂肪酸水平即可对BK_{Ca}通道具有相应的调节作用, 进而对生理活动产生一定的影响, 如心血管系统中对血压的影

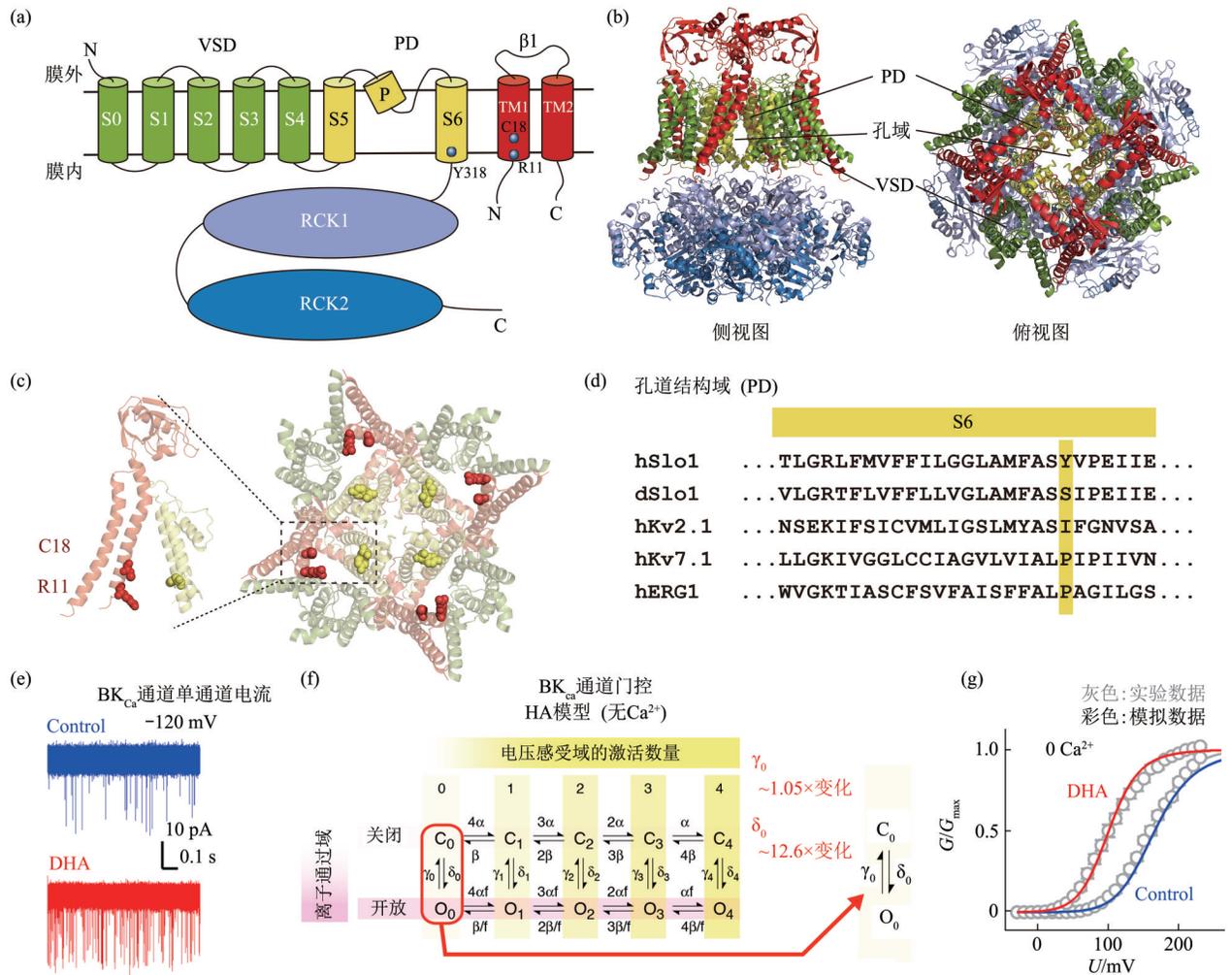


Fig. 3 Structure of BK_{Ca} channels, action sites of poly-unsaturated fatty acids and regulatory mechanisms

图3 BK_{Ca}通道的结构及多不饱和脂肪酸作用位点与调控机制

(a) BK_{Ca} α亚基的拓扑结构；(b) BK_{Ca} α+β1亚基复合体结构示意图（基于PDB: 6V35结构的同源建模）；(c, d) S6片段上Y318位点的序列比对对hSl1o1 (UI: Q12791)、dSl1o1 (NP: 001014653.1)、hKv_{2.1} (UI: Q14721)、hKv_{7.1} (UI: P51787)、hERG1 (UI: Q12809)；(e-g) DHA调节BK_{Ca}通道门控的分子机制示意图。

响、神经系统对神经元兴奋性或神经免疫的影响等^[88-89]，因此研究多不饱和脂肪酸对BK_{Ca}通道的调节作用具有重要意义。已有多项研究表明，DHA、AA等多不饱和脂肪酸可以间接或直接激活各种天然细胞中的BK_{Ca}通道^[89-90]，通过增加钾离子外流，减少钙离子内流，加速细胞膜电位的复极化，从而产生有利的生理状态改变^[89]。一些研究结果显示，多不饱和脂肪酸通过多种机制激活BK_{Ca}通道，如Qian等^[91]发现，低浓度DHA (<1 μmol/L) 可在CYP环氧合酶代谢物介导下，激活BK_{Ca}通道，而当浓度上升到微摩尔后，DHA可直接激活BK_{Ca}，无需CYP环氧合酶代谢物的介导。此外，DHA还可以通过磷脂酶C-肌醇三磷酸-Ca²⁺

信号通路激活BK_{Ca}通道。另外一些研究通过异源表达系统也明确显示BK_{Ca}通道可被多不饱和脂肪酸直接激活。多个研究组的工作表明，AA可以通过直接作用激活表达于血管平滑肌或HEK细胞上的BK_{Ca}通道，在施加生理浓度 (~10 μmol/L) 的AA后，通道电流显著增大，同时V_{half}向复极化方向移动^[92-93]。而Hoshi组^[94-96]的工作主要表明，在施加饱和浓度 (~3 μmol/L) 的DHA后，表达于HEK细胞的BK_{Ca}通道电流可被增大6~10倍，V_{half}向复极化方向大幅移动。这些研究表明，无论是ω-3或ω-6不饱和脂肪酸，均会对BK_{Ca}通道产生明显地正向调节作用。

3.3 多不饱和脂肪酸调控BK_{Ca}通道的作用靶点和分子机制

目前, 已有一些研究对多不饱和脂肪酸作用于BK_{Ca}通道的机制与分子靶点进行了较为深入的研究。Hoshi等^[95]的研究表明, 在体外表达的BK_{Ca}通道上, DHA可以增大BK_{Ca}通道的电流幅值, 使通道的G-V曲线向复极化方向移动。而进一步通过在超极化电压条件下记录的BK_{Ca}单通道开放概率表明, 在将电压感受结构域置于静息状态时, DHA依然可以有效增加BK_{Ca}通道的开放概率, 但并不改变通道的电导值(图3e, g)。借助HA模型可以表明, DHA主要增大了表征PD结构域核心孔道门控的关键参数 L_0 , 导致通道关闭态能量的降低, 进而使得通道的关闭态更不稳定, 更容易由关闭态转换到开放态^[86]。HA模型数值模拟表明上述机制是DHA激活BK_{Ca}通道的主要或唯一机制。Hoshi等^[97]在后续研究中, 进一步通过将BK_{Ca}通道胞内结构域整体移除, 证实仅跨膜结构域即可响应DHA对BK_{Ca}通道的全部作用效果。利用构建的人-果蝇BK_{Ca}通道功能性嵌合体开展的电生理实验表明, 人源BK_{Ca}通道PD的S5-P loop-S6片段是响应多不饱和脂肪酸的关键区域。进一步通过对S5-P loop-S6片段中差异化氨基酸进行定点突变扫描, 鉴定出S6片段上318位的酪氨酸是与多不饱和脂肪酸相互作用的唯一位点, 这也与前述HA模型的模拟相互吻合, 即多不饱和脂肪酸通过和PD区域上Y318形成相互作用调节BK_{Ca}通道核心的选择性滤器门控过程(图3c, d)。这一结论与后续Martin等^[93]在AA和BK_{Ca}通道的相互作用机制的结果也相互印证。

为进一步阐明多不饱和脂肪酸与BK_{Ca}通道之间的相互作用, Tian等^[96]进行了更为深入的研究。结果表明, 以DHA为代表的多不饱和脂肪酸通过带负极性的羧酸头部和Y318的羟基形成离子-偶极间的相互作用。通过提高溶液pH, 使羧酸头部处于去质子化状态或通过人工合成构建具有更低 pK_a 头部的DHA类似物, 都可以显著增强多不饱和脂肪酸的作用效果。而通过对BK_{Ca}通道318位的定点突变和引入极性特征更为可控的人工氨基酸, 可进一步明确318位点的酪氨酸所携带的极性羟基是BK_{Ca}通道参与和多不饱和脂肪酸相互作用的关键基团。此外, 研究还进一步明确了多不饱和脂肪酸的亲和力与其碳链的长短间的重要关系, 碳链尾部越长则亲和力越高, 而碳链尾部上双键的数目、位

置和羟基化修饰也对其效果具有重要影响。但这一系列研究并未完全解释多不饱和脂肪酸和Y318位点形成相互作用后BK_{Ca}通道的选择性滤器门控如何改变, 以及多不饱和脂肪酸如何结合于BK_{Ca}通道的相关区域。

3.4 BK_{Ca}通道辅助亚基对多不饱和脂肪酸作用的调节

除 α 亚基外, 不同的辅助亚基也可以通过影响BK_{Ca}通道的门控过程显著地改变其电生理特性和药理学特性。BK_{Ca}通道的附属亚基包括4种具有两跨膜结构(2TM)的 β 亚基($\beta 1\sim\beta 4$)和4种具有单跨膜结构(1TM)的 γ 亚基($\gamma 1\sim\gamma 4$)。这些附属亚基具有高度组织特异性, 这也是完整的BK_{Ca}通道($\alpha+\beta/\gamma$)复合体具有多样的生理功能的分子和结构基础^[98]。例如, $\beta 1/4$ 亚基可以显著增加Ca²⁺敏感性、增加PD关闭构象的稳定性并减慢通道激活和去激活动力学过程^[99]。 $\beta 2$ 亚基改变了VSD和PD的耦合程度, 同时使BK_{Ca}通道具有N-型失活(N-type inactivation)的特征^[100]。

现有的研究表明, 多不饱和脂肪酸对BK_{Ca}通道的调控高度依赖于辅助亚基。当 $\beta 1$ 或 $\beta 4$ 亚基存在时, 多不饱和脂肪酸会显著增大激活BK_{Ca}通道的效能, 通过对单通道记录的分析以及HA模型拟合, 可以确定 $\beta 1$ 或 $\beta 4$ 亚基存在不改变多不饱和脂肪酸减弱BK_{Ca}通道关闭稳定性的机制, 而使得这种作用进一步增大(L_0 由3倍左右的增加变为10倍以上的增加), 即 $\beta 1/4$ 亚基起到多不饱和脂肪酸效果“放大器”的作用。通过定点突变研究, 发现 $\beta 1/\beta 4$ 亚基上N端的 $\beta 1$ R11-C18和 $\beta 4$ E12-R19对这一效果的产生至关重要, 需要两个位点分别携带具有相反电荷的氨基酸, 当其中一个位点被移除电荷后, 其“放大”多不饱和脂肪酸激活作用的效应则显著降低甚至消失(图3c)^[94]。而 $\beta 2$ 亚基对多不饱和脂肪酸的调控则具有更复杂的特征, DHA和AA在作用于BK_{Ca}通道和 $\beta 2$ 亚基共表达的复合物后, 具有差异性效果^[93-94]。

但更为深入的分子机制, 即 $\beta 1/\beta 4$ 亚基上N端如何发挥了“放大器”的效果, 目前都未能进一步阐明。由于BK_{Ca}通道辅助亚基表达具有组织和细胞特异性的特点, 多不饱和脂肪酸具有开发成为靶向激动剂的潜力, 同时也提示其在细胞内的作用形式可能也具有差异性。由于有关机制尚不明了, 相关应用受到较大限制。

4 总结与展望

综上所述, K_v7 和 BK_{Ca} 通道作为广泛表达于生物体内的钾离子通道, 在各种组织中通过调节细胞的兴奋性参与多种生理过程。它们的功能异常也可能导致多种病理过程的发生。多不饱和脂肪酸中带负电荷的头部基团能够直接与 K_v7 和 BK_{Ca} 通道中带正电氨基酸残基发生静电相互作用, 从而调节通道的开放状态, 这使其有望在许多疾病尤其是心血管疾病的药物治疗过程中发挥重要作用。例如, 多不饱和脂肪酸可通过影响 $K_v7.1$ 通道 VSD 结构域的移动来恢复心律失常心肌细胞的节律性放电, 从而缩短豚鼠心脏的 QT 间期^[11]。DHA 通过作用于 BK_{Ca} 通道 Y318 位点侧链周围的相互作用口袋激活 BK_{Ca} 通道, 使肺动脉高压患者血管张力恢复到健康受试者水平^[101]。总之, 多不饱和脂肪酸及其多种类似物由于其头部带电基团或尾部长短、双键位置和数量的不同, 对 K_v7 和 BK_{Ca} 通道电流具有不同的调控效果。因此, 通过使用不同种类的多不饱和脂肪酸或者根据调控规律设计更有效的多不饱和脂肪酸类似物来调控 K_v7 和 BK_{Ca} 通道的开放, 对于高血压、心脏节律异常等心血管疾病的预防或治疗具有重大帮助。

多不饱和脂肪酸除作为营养成分外, 其作为信号分子对各类生理过程的调控作用和机制已受到越来越多的重视。离子通道作为多不饱和脂肪酸重要的作用靶点, 深入研究其与多不饱和脂肪酸相互作用的结构基础、分子机制和生物物理机制对更全面地了解多不饱和脂肪酸的生理或病理作用, 以及药物开发具有重要意义。不同于常见的小分子物质, 多不饱和脂肪酸具有柔性可变的碳链尾部以及和细胞膜脂的相溶特征, 使其作用于通道蛋白的形式区别于以往的“配体-口袋”结合形式, 这使得相应的研究需要借助结构生物学、计算生物学、分子生物学以及电生理记录等多技术手段探索细胞膜脂质成分和通道蛋白交互作用的机制。虽然已有众多研究组在这一方向开展研究, 但目前依然只能针对各个通道开展特定研究, 未能形成系统性技术路径, 也未能在更为深入的分子层面对相关多不饱和脂肪酸对离子通道的调控进行解析。

本文结合作者之前的研究工作, 对具有重要生理功能, 且相关作用机制已研究较为全面和有深度的 K_v7 和 BK_{Ca} 通道进行了综述。期望本综述能对未来更多多不饱和脂肪酸调节离子通道的机制研究提

供参考和借鉴, 对认识多不饱和脂肪酸的作用和开发以多不饱和脂肪酸为结构基础的离子通道激动剂/抑制剂提供思路。

参 考 文 献

- [1] Liebisch G, Fahy E, Aoki J, *et al.* Update on LIPID MAPS classification, nomenclature, and shorthand notation for MS-derived lipid structures. *J Lipid Res*, 2020, **61**(12): 1539-1555
- [2] Djuricic I, Calder P C. Beneficial outcomes of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on human health: an update for 2021. *Nutrients*, 2021, **13**(7): 2421
- [3] Venkatachalam K. Regulation of aging and longevity by ion channels and transporters. *Cells*, 2022, **11**(7): 1180
- [4] Rosati B, Mckinnon D. Regulation of ion channel expression. *Circ Res*, 2004, **94**(7): 874-883
- [5] Kimura I, Ichimura A, Ohue-Kitano R, *et al.* Free fatty acid receptors in health and disease. *Physiol Rev*, 2020, **100**(1): 171-210
- [6] Skarsfeldt M A, Liin S I, Larsson H P, *et al.* Polyunsaturated fatty acid-derived I_{Ks} channel activators shorten the QT interval *ex-vivo* and *in-vivo*. *Acta Physiol (Oxf)*, 2020, **229**(4): e13471
- [7] Ivkovic S, Major T, Mitic M, *et al.* Fatty acids as biomodulators of Piezo1 mediated glial mechanosensitivity in Alzheimer's disease. *Life Sci*, 2022, **297**: 120470
- [8] Morales-Lazaro S L, Lemus L, Rosenbaum T. Regulation of thermoTRPs by lipids. *Temperature (Austin)*, 2017, **4**(1): 24-40
- [9] Chen J, Liu H. Nutritional indices for assessing fatty acids: a mini-review. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(16): 5695
- [10] Hamilton J A. Fatty acid transport: difficult or easy?. *J Lipid Res*, 1998, **39**(3): 467-481
- [11] Liin S I, Silvera Ejneby M, Barro-Soria R, *et al.* Polyunsaturated fatty acid analogs act antiarrhythmically on the cardiac I_{Ks} channel. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(18): 5714-5719
- [12] Oteng A B, Kersten S. Mechanisms of action of trans fatty acids. *Adv Nutr*, 2020, **11**(3): 697-708
- [13] Jakobsson A, Westerberg R, Jacobsson A. Fatty acid elongases in mammals: their regulation and roles in metabolism. *Prog Lipid Res*, 2006, **45**(3): 237-249
- [14] Kihara A. Very long-chain fatty acids: elongation, physiology and related disorders. *J Biochem*, 2012, **152**(5): 387-395
- [15] Conquer J A, Holub B J. Effect of supplementation with different doses of DHA on the levels of circulating DHA as non-esterified fatty acid in subjects of Asian Indian background. *J Lipid Res*, 1998, **39**(2): 286-292
- [16] Fraser D D, Whiting S, Andrew R D, *et al.* Elevated polyunsaturated fatty acids in blood serum obtained from children on the ketogenic diet. *Neurology*, 2003, **60**(6): 1026-1029
- [17] Brouwer I A, Zock P L, Camm A J, *et al.* Effect of fish oil on ventricular tachyarrhythmia and death in patients with implantable cardioverter defibrillators: the Study on Omega-3 Fatty Acids and Ventricular Arrhythmia (SOFA) randomized trial. *JAMA*, 2006, **295**(22): 2613-2619

- [18] Liu L, Bonventre J V, Rittenhouse A R. cPLA2 α -/- sympathetic neurons exhibit increased membrane excitability and loss of N-type Ca²⁺ current inhibition by M1 muscarinic receptor signaling. *PLoS One*, 2018, **13**(12): e0201322
- [19] Iglesias A, Lage S, Cadavid M I, *et al.* Development of a multiplex assay for studying functional selectivity of human serotonin 5-HT_{2A} receptors and identification of active compounds by high-throughput screening. *J Biomol Screen*, 2016, **21**(8): 816-823
- [20] Kukkonen J P. Orexin/hypocretin signaling. *Curr Top Behav Neurosci*, 2017, **33**: 17-50
- [21] Hayashi D, Mouchlis V D, Dennis E A. Omega-3 versus Omega-6 fatty acid availability is controlled by hydrophobic site geometries of phospholipase A(2)s. *J Lipid Res*, 2021, **62**: 100113
- [22] Gharami K, Das M, Das S. Essential role of docosahexaenoic acid towards development of a smarter brain. *Neurochem Int*, 2015, **89**: 51-62
- [23] Falomir-Lockhart L J, Cavazzutti G F, Gimenez E, *et al.* Fatty acid signaling mechanisms in neural cells: fatty acid receptors. *Front Cell Neurosci*, 2019, **13**: 162
- [24] Crupi R, Cuzzocrea S. Role of EPA in inflammation: mechanisms, effects, and clinical relevance. *Biomolecules*, 2022, **12**(2): 242
- [25] Lee J B, Notay K, Klingel S L, *et al.* Docosahexaenoic acid reduces resting blood pressure but increases muscle sympathetic outflow compared with eicosapentaenoic acid in healthy men and women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, **316**(4): H873-H881
- [26] Mozaffarian D, Wu J H. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J Am Coll Cardiol*, 2011, **58**(20): 2047-2067
- [27] Pauls S D, Rodway L A, Winter T, *et al.* Anti-inflammatory effects of alpha-linolenic acid in M1-like macrophages are associated with enhanced production of oxylipins from alpha-linolenic and linoleic acid. *J Nutr Biochem*, 2018, **57**: 121-129
- [28] Fournier N, Benoist J F, Allaoui F, *et al.* Contrasting effects of membrane enrichment with polyunsaturated fatty acids on phospholipid composition and cholesterol efflux from cholesterol-loaded J774 mouse or primary human macrophages. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2020, **1865**(2): 158536
- [29] Tull S P, Yates C M, Maskrey B H, *et al.* Omega-3 Fatty acids and inflammation: novel interactions reveal a new step in neutrophil recruitment. *PLoS Biol*, 2009, **7**(8): e1000177
- [30] Suzuki N, Sawada K, Takahashi I, *et al.* Association between polyunsaturated fatty acid and reactive oxygen species production of neutrophils in the general population. *Nutrients*, 2020, **12**(11): 3222
- [31] Duah M, Zhang K, Liang Y, *et al.* Immune regulation of polyunsaturated fatty acids and free fatty acid receptor 4. *J Nutr Biochem*, 2023, **112**: 109222
- [32] Elinder F, Liin S I. Actions and mechanisms of polyunsaturated fatty acids on voltage-gated ion channels. *Front Physiol*, 2017, **8**: 43
- [33] Abramochkin D V, Hassinen M, Vornanen M. Transcripts of K_v7.1 and MinK channels and slow delayed rectifier K⁺ current (IKs) are expressed in zebrafish (*Danio rerio*) heart. *Pflugers Arch*, 2018, **470**(12): 1753-1764
- [34] Neyroud N, Tesson F, Denjoy I, *et al.* A novel mutation in the potassium channel gene K_vLQT1 causes the Jervell and Lange-Nielsen cardioauditory syndrome. *Nat Genet*, 1997, **15**(2): 186-189
- [35] Kreir M, De Bondt A, Van Den Wyngaert I, *et al.* Role of K_v7.2/K_v7.3 and M(1) muscarinic receptors in the regulation of neuronal excitability in hiPSC-derived neurons. *Eur J Pharmacol*, 2019, **858**: 172474
- [36] Peixoto Pinheiro B, Vona B, Lowenheim H, *et al.* Age-related hearing loss pertaining to potassium ion channels in the cochlea and auditory pathway. *Pflugers Arch*, 2021, **473**(5): 823-840
- [37] Jepps T A, Chadha P S, Davis A J, *et al.* Downregulation of K_v7.4 channel activity in primary and secondary hypertension. *Circulation*, 2011, **124**(5): 602-611
- [38] Chadha P S, Jepps T A, Carr G, *et al.* Contribution of K_v7.4/K_v7.5 heteromers to intrinsic and calcitonin gene-related peptide-induced cerebral reactivity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, **34**(4): 887-893
- [39] Jepps T A, Carr G, Lundegaard P R, *et al.* Fundamental role for the KCNE4 ancillary subunit in K_v7.4 regulation of arterial tone. *J Physiol*, 2015, **593**(24): 5325-5340
- [40] Lerche C, Scherer C R, Seeböhm G, *et al.* Molecular cloning and functional expression of KCNQ5, a potassium channel subunit that may contribute to neuronal M-current diversity. *J Biol Chem*, 2000, **275**(29): 22395-22400
- [41] Brueggemann L I, Cribbs L L, Byron K L. Heteromeric channels formed from alternating K_v7.4 and K_v7.5 alpha-subunits display biophysical, regulatory, and pharmacological characteristics of smooth muscle M-currents. *Front Physiol*, 2020, **11**: 992
- [42] Naffaa M M, Al-Ewaيدات O A. Ligand modulation of KCNQ-encoded (K_v7) potassium channels in the heart and nervous system. *Eur J Pharmacol*, 2021, **906**: 174278
- [43] Nappi P, Miceli F, Soldovieri M V, *et al.* Epileptic channelopathies caused by neuronal K_v7 (KCNQ) channel dysfunction. *Pflugers Arch*, 2020, **472**(7): 881-898
- [44] Hoshi N. M-current suppression, seizures and lipid metabolism: a potential link between neuronal K_v7 channel regulation and dietary therapies for epilepsy. *Front Physiol*, 2020, **11**: 513
- [45] Barrese V, Stott J B, Greenwood I A. KCNQ-encoded potassium channels as therapeutic targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2018, **58**: 625-648
- [46] Schwake M, Jentsch T J, Friedrich T. A carboxy-terminal domain determines the subunit specificity of KCNQ K⁺ channel assembly. *EMBO Rep*, 2003, **4**(1): 76-81
- [47] Schwake M, Athanasiadu D, Beimgraben C, *et al.* Structural determinants of M-type KCNQ (K_v7) K⁺ channel assembly. *J Neurosci*, 2006, **26**(14): 3757-3766
- [48] Jentsch T J. Neuronal KCNQ potassium channels: physiology and role in disease. *Nat Rev Neurosci*, 2000, **1**(1): 21-30
- [49] Jepps T A, Barrese V, Miceli F. Editorial: K_v7 channels: structure,

- physiology, and pharmacology. *Front Physiol*, 2021, **12**: 679317
- [50] Sun J, Mackinnon R. Cryo-EM structure of a KCNQ1/CaM complex reveals insights into congenital long QT syndrome. *Cell*, 2017, **169**(6): 1042-1050.e49
- [51] Li X, Zhang Q, Guo P, *et al.* Molecular basis for ligand activation of the human KCNQ2 channel. *Cell Res*, 2021, **31**(1): 52-61
- [52] Barro-Soria R, Rebolledo S, Liin S I, *et al.* KCNE1 divides the voltage sensor movement in KCNQ1/KCNE1 channels into two steps. *Nat Commun*, 2014, **5**: 3750
- [53] Yazdi S, Stein M, Elinder F, *et al.* The molecular basis of polyunsaturated fatty acid interactions with the shaker voltage-gated potassium channel. *PLoS Comput Biol*, 2016, **12**(1): e1004704
- [54] Taylor K C, Kang P W, Hou P, *et al.* Structure and physiological function of the human KCNQ1 channel voltage sensor intermediate state. *Elife*, 2020, **9**: e53901
- [55] Cui J. Voltage-dependent gating: novel insights from KCNQ1 channels. *Biophys J*, 2016, **110**(1): 14-25
- [56] Hou P, Kang P W, Kongmenek A D, *et al.* Two-stage electro-mechanical coupling of a K_v channel in voltage-dependent activation. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 676
- [57] Moreno C, De La Cruz A, Oliveras A, *et al.* Marine n-3 PUFAs modulate I_{Ks} gating, channel expression, and location in membrane microdomains. *Cardiovasc Res*, 2015, **105**(2): 223-232
- [58] Liin S I, Karlsson U, Bentzen B H, *et al.* Polyunsaturated fatty acids are potent openers of human M-channels expressed in *Xenopus laevis* oocytes. *Acta Physiol (Oxf)*, 2016, **218**(1): 28-37
- [59] Bohannon B M, Wu X, Wu X, *et al.* Polyunsaturated fatty acids produce a range of activators for heterogeneous I_{Ks} channel dysfunction. *J Gen Physiol*, 2020, **152**(2): e201912396
- [60] Frampton D J A, Choudhury K, Nikesjo J, *et al.* Subtype-specific responses of hK_v7.4 and hK_v7.5 channels to polyunsaturated fatty acids reveal an unconventional modulatory site and mechanism. *Elife*, 2022, **11**: e77672
- [61] Liin S I, Larsson J E, Barro-Soria R, *et al.* Fatty acid analogue N-arachidonoyl taurine restores function of I_{Ks} channels with diverse long QT mutations. *Elife*, 2016, **5**: e20272
- [62] Liin S I, Yazdi S, Ramentol R, *et al.* Mechanisms underlying the dual effect of polyunsaturated fatty acid analogs on K_v7.1. *Cell Rep*, 2018, **24**(11): 2908-2918
- [63] Larsson J E, Larsson H P, Liin S I. KCNE1 tunes the sensitivity of K_v7.1 to polyunsaturated fatty acids by moving turret residues close to the binding site. *Elife*, 2018, **7**: e37257
- [64] Yazdi S, Nikesjo J, Miranda W, *et al.* Identification of PUFA interaction sites on the cardiac potassium channel KCNQ1. *J Gen Physiol*, 2021, **153**(6): e202012850
- [65] Bohannon B M, Jowais J J, Nyberg L, *et al.* Mechanistic insights into robust cardiac I_{Ks} potassium channel activation by aromatic polyunsaturated fatty acid analogues. *Elife*, 2023, **12**: e85773
- [66] Sun J, Mackinnon R. Structural basis of human KCNQ1 modulation and gating. *Cell*, 2020, **180**(2): 340-347. e349
- [67] Doolan G K, Panchal R G, Fonnes E L, *et al.* Fatty acid augmentation of the cardiac slowly activating delayed rectifier current (IKs) is conferred by hminK. *FASEB J*, 2002, **16**(12): 1662-1664
- [68] Valenzuela C. M-channels and n-3 polyunsaturated fatty acids: role in pain and epilepsy. *Acta Physiol (Oxf)*, 2016, **218**(1): 7-9
- [69] Yang H, Zhang G, Cui J. BK channels: multiple sensors, one activation gate. *Front Physiol*, 2015, **6**: 29
- [70] Horrigan F T, Aldrich R W. Coupling between voltage sensor activation, Ca²⁺ binding and channel opening in large conductance (BK) potassium channels. *J Gen Physiol*, 2002, **120**(3): 267-305
- [71] Cui J, Cox D H, Aldrich R W. Intrinsic voltage dependence and Ca²⁺ regulation of mslo large conductance Ca-activated K⁺ channels. *J Gen Physiol*, 1997, **109**(5): 647-673
- [72] Hoshi T, Pantazis A, Olcese R. Transduction of voltage and Ca²⁺ signals by Slo1 BK channels. *Physiology (Bethesda)*, 2013, **28**(3): 172-189
- [73] Williams P D E, Zahratka J A, Rodenbeck M, *et al.* Serotonin disinhibits a *Caenorhabditis elegans* sensory neuron by suppressing Ca²⁺-dependent negative feedback. *J Neurosci*, 2018, **38**(8): 2069-2080
- [74] Contet C, Goulding S P, Kuljis D A, *et al.* BK channels in the central nervous system. *Int Rev Neurobiol*, 2016, **128**: 281-342
- [75] Dopico A M, Bukiya A N, Jaggar J H. Calcium- and voltage-gated BK channels in vascular smooth muscle. *Pflugers Arch*, 2018, **470**(9): 1271-1289
- [76] Duncan P J, Shipston M J. BK channels and the control of the pituitary. *Int Rev Neurobiol*, 2016, **128**: 343-368
- [77] Zhou N, Li H, Xu J, *et al.* Two types of peptides derived from the neurotoxin GsMTx4 inhibit a mechanosensitive potassium channel by modifying the mechanogate. *J Biol Chem*, 2022, **298**(9): 102326
- [78] Kristensen M, Hansen T, Juel C. Membrane proteins involved in potassium shifts during muscle activity and fatigue. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2006, **290**(3): R766-772
- [79] Ochoa S V, Otero L, Aristizabal-Pachon A F, *et al.* Hypoxic regulation of the large-conductance, calcium and voltage-activated potassium channel, BK. *Front Physiol*, 2021, **12**: 780206
- [80] Farajnia S, Meijer J H, Michel S. Age-related changes in large-conductance calcium-activated potassium channels in mammalian circadian clock neurons. *Neurobiol Aging*, 2015, **36**(6): 2176-2183
- [81] Ma Z, Lou X J, Horrigan F T. Role of charged residues in the S1-S4 voltage sensor of BK channels. *J Gen Physiol*, 2006, **127**(3): 309-328
- [82] Geng Y, Magleby K L. Single-channel kinetics of BK (Slo1) channels. *Front Physiol*, 2014, **5**: 532
- [83] Cui J. BK channel gating mechanisms: progresses toward a better understanding of variants linked neurological diseases. *Front Physiol*, 2021, **12**: 762175
- [84] Thompson J, Begenisich T. Selectivity filter gating in large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels. *J Gen Physiol*, 2012, **139**(3): 235-244
- [85] Tian Y, Heinemann S H, Hoshi T. Large-conductance Ca²⁺ and

- voltage-gated K^+ channels form and break interactions with membrane lipids during each gating cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(17): 8591-8596
- [86] Hoshi T, Heinemann S H. Modulation of BK channels by small endogenous molecules and pharmaceutical channel openers. *Int Rev Neurobiol*, 2016, **128**: 193-237
- [87] Herrmann M, Simstich S, Fauler G, *et al.* The relationship between plasma free fatty acids, cognitive function and structural integrity of the brain in middle-aged healthy humans. *Aging (Albany NY)*, 2021, **13**(18): 22078-22091
- [88] Cordero-Morales J F, Vasquez V. How lipids contribute to ion channel function, a fat perspective on direct and indirect interactions. *Curr Opin Struct Biol*, 2018, **51**: 92-98
- [89] Bercea C I, Cottrell G S, Tamagnini F, *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acids and hypertension: a review of vasodilatory mechanisms of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid. *Br J Pharmacol*, 2021, **178**(4): 860-877
- [90] Olszewska A, Bednarczyk P, Siemen D, *et al.* Modulation of the mitochondrial large-conductance calcium-regulated potassium channel by polyunsaturated fatty acids. *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1837**(10): 1602-1610
- [91] Qian L L, Sun M Q, Wang R X, *et al.* Mechanisms of BK channel activation by docosahexaenoic acid in rat coronary arterial smooth muscle cells. *Front Pharmacol*, 2018, **9**: 223
- [92] Martin P, Moncada M, Enrique N, *et al.* Arachidonic acid activation of BK_{Ca} (Slo1) channels associated to the beta1-subunit in human vascular smooth muscle cells. *Pflugers Arch*, 2014, **466**(9): 1779-1792
- [93] Martin P, Moncada M, Castillo K, *et al.* Arachidonic acid effect on the allosteric gating mechanism of BK (Slo1) channels associated with the beta1 subunit. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2021, **1863**(9): 183550
- [94] Hoshi T, Tian Y, Xu R, *et al.* Mechanism of the modulation of BK potassium channel complexes with different auxiliary subunit compositions by the omega-3 fatty acid DHA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(12): 4822-4827
- [95] Hoshi T, Wissuwa B, Tian Y, *et al.* Omega-3 fatty acids lower blood pressure by directly activating large-conductance Ca^{2+} -dependent K^+ channels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(12): 4816-4821
- [96] Tian Y, Aursnes M, Hansen T V, *et al.* Atomic determinants of BK channel activation by polyunsaturated fatty acids. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, **113**(48): 13905-13910
- [97] Hoshi T, Xu R, Hou S, *et al.* A point mutation in the human Slo1 channel that impairs its sensitivity to omega-3 docosahexaenoic acid. *J Gen Physiol*, 2013, **142**(5): 507-522
- [98] Li Q, Yan J. Modulation of BK channel function by auxiliary beta and gamma subunits. *Int Rev Neurobiol*, 2016, **128**: 51-90
- [99] Gonzalez-Perez V, Lingle C J. Regulation of BK channels by beta and gamma subunits. *Annu Rev Physiol*, 2019, **81**: 113-137
- [100] Savalli N, Kondratiev A, De Quintana S B, *et al.* Modes of operation of the BK_{Ca} channel beta2 subunit. *J Gen Physiol*, 2007, **130**(1): 117-131
- [101] Nagaraj C, Tang B, Nagy B M, *et al.* Docosahexaenoic acid causes rapid pulmonary arterial relaxation *via* K_{Ca} channel-mediated hyperpolarisation in pulmonary hypertension. *Eur Respir J*, 2016, **48**(4): 1127-1136

Role and Mechanism of Polyunsaturated Fatty Acids on Potassium Ion Channels*

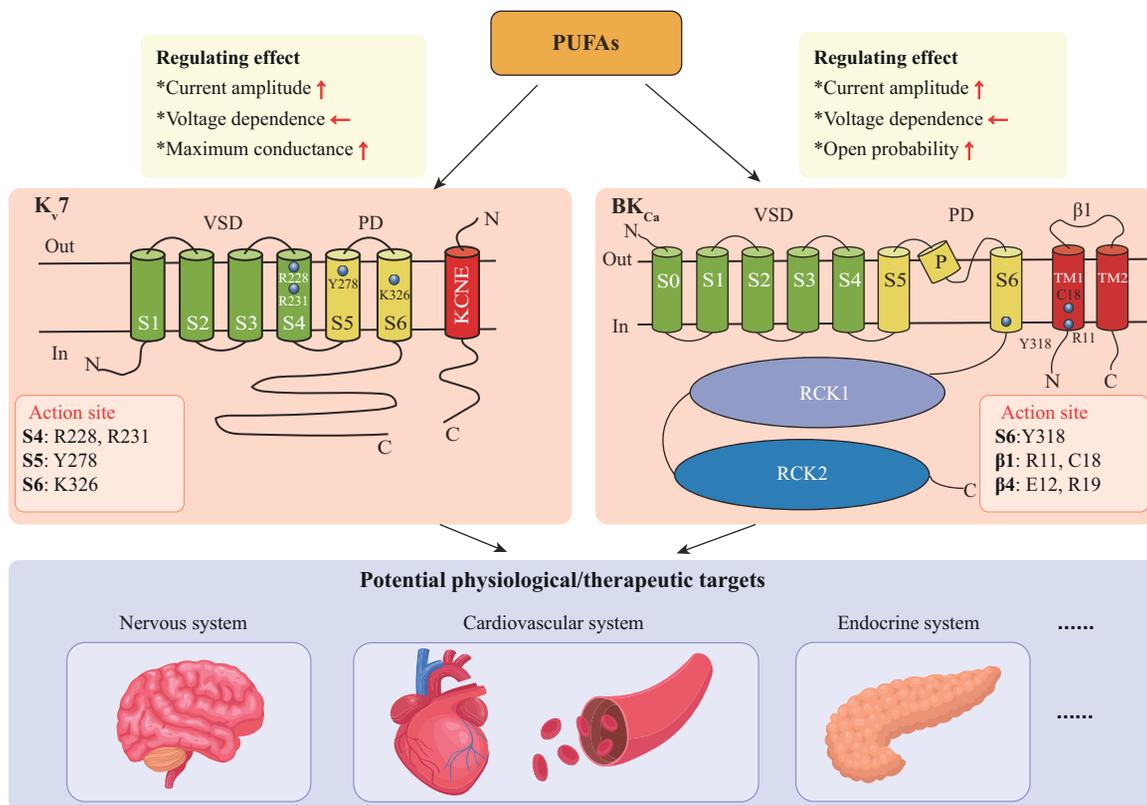
SUN Yu-Jiao¹⁾, CHANG Chao²⁾, WU Zhen-Hua²⁾, ZHANG Yi-Fei^{1,3)**}, TIAN Yu-Tao^{1,3)**}

¹⁾Academy of Medical Engineering and Translational Medicine, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

²⁾Cardiac Surgery Intensive Care Unit, Chest Hospital, Tianjin University, Tianjin 300051, China;

³⁾Tianjin Key Laboratory of Brain Science and Neural Engineering, Tianjin 300072, China)

Graphical abstract



Abstract Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) have diverse health-promoting effects, such as potentially protecting in immune, nervous, and cardiovascular systems by targeting a variety of sites, including most ion channels. Voltage-gated potassium channels of the K_v7 family and large-conductance Ca²⁺- and voltage-activated

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (32071103, 32100726, 82001420) and Tianjin Education Commission Scientific Research Project (2022YGYB10).

** Corresponding author.

TIAN Yu-Tao. Tel: 86-22-83612122, E-mail: yutao.tian@tju.edu.cn

ZHANG Yi-Fei. Tel: 86-22-83612122, E-mail: zhangyf19@tju.edu.cn

Received: February 5, 2023 Accepted: April 18, 2023

K^+ (BK_{Ca}) channels are expressed in many tissues, therefore, their physiological importance is evident from the various disorders linked to dysfunctional K_v7 channels and BK_{Ca} channels. Thus, it is extremely important to learn how potassium channels are regulated by PUFAs. The aim of this review is to provide an overview of the effects of PUFAs on K_v7 channels and BK_{Ca} channels functions, as well as the mechanisms underlying these effects. In summarizing reported effects of PUFAs on K_v7 and BK_{Ca} channels mediated currents, we generally conclude that PUFAs increase the current amplitude, meanwhile, differential molecular and biophysical mechanisms are associated with the current increase. In K_v7 channels the currents increasement are associated with a shift in the voltage dependence of channel opening and increased maximum conductance in K_v7 channels, while in BK_{Ca} channels, they are associated with destabilization the pore domain closed conformation. Furthermore, PUFA effects are influenced by auxiliary subunits of K_v7 and BK_{Ca} channels, associate with channels in certain tissues. although findings are conflicting. A better understanding of how PUFAs regulate K_v7 and BK_{Ca} channels may offer insight into their physiological regulation and may lead to new therapeutic strategies and approaches.

Key words polyunsaturated fatty acids, K_v7 channels, BK_{Ca} channels, lipid molecule, gating mechanism

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0032