

Pannexin-1 在急性缺血性脑卒中中的研究进展

刘小曼 臧福才 郎明非 崔晓蝶 白鹰

【中图分类号】 R743.3 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2020)04-0542-04
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2020.04.032

Pannexin-1(Panx-1)属于 Pannexins 跨膜通道蛋白家族成员之一,在中枢神经系统中大量表达。Panx-1 在急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)的发生发展过程中发挥关键作用,缺血所致细胞外 ATP、谷氨酸浓度增加激活 P2X7R 和 NMDAR,后者通过 SFK 交叉激活 Panx-1 通道,一方面 Panx-1 作为非选择性大孔质膜通道导致膜通透性增加;另一方面可进一步激活 P2X7R、NMDAR、NLRP3 等触发一系列细胞反应,二者均可加重组织损伤。有研究发现 Panx-1 抑制剂可降低细胞死亡、减轻炎症反应,具有神经保护作用,但其结果仍存在争议,尚需进一步研究。本研究就 Pannexin-1 及其与急性缺血性脑卒中的相关性进行综述

根据 2017 年发表的 Ness-China 中国脑卒中流行病学调查研究,脑卒中年龄标准化患病率为 1114.8/10 万人年,发病率为 246.8/10 万人年,死亡率为 114.8/10 万人年,中国在过去 30 年中脑卒中发病率显著上升^[1]。AIS 作为一种具有较高发病率、致残率、复发率的脑血管疾病,给患者和社会带来了沉重的负担,寻找新的有效生物靶点、研发新型治疗药物显得尤为迫切,最近大量研究发现 pannexin-1 与 AIS 之间具有密切相关性。

1 Pannexins

Pannexins 属于脊椎动物跨膜通道蛋白家族,其与无脊椎动物缝隙连接蛋白(innexins)具有同源性。然而,Pannexins 并不形成缝隙连接,而是作为质膜通道发挥作用。Pannexins 家族仅包括 3 个蛋白成员,即 Panx-1、Panx-2、Panx-3。Panx-1 是一种几乎所有组织中都有表达的通道蛋白,在脊椎动物中枢神经系统中大量表达^[2]。在脊椎动物中连接蛋白(connexin)家族负责缝隙连接的组装,connexin 蛋白在内质网或高尔基体中组装成六聚体,称为连接子(connexons)或半通道(hemichannel),随后被转运至质膜^[3]。1 个细胞的半通道与相邻细胞的半通道对接,在细胞-细胞接触区域形成缝隙连接的细胞间通道。Pannexins 最初也被称为半通道,当初认为它也参与缝隙连接的形成,但并没有证据证实^[4]。Panx-1 虽然和 connexins 一样,在分泌途径的早期进行六聚体低聚,但它是作为大孔质膜通道发挥作用,半通道的不完全组装状态并不适用于 Pannexins^[5]。

Pannexins 于 2000 年被 Panchin 等人发现^[6],命名由拉丁语 pan(all,全部)、nexus(connection,连接)二词结合而成。早在 1996 年 Graeme Bolger 就克隆出了 Pannexins 蛋白的序列,并将其命名为 MRS1 存入 GenBank(NCBI 建成的世界上最大的基因数据库)^[7]。2003 年 Bruzzone 研究证实 Pannexins 形成细胞间通道,并且在中枢神经系统(CNS)中大量表达^[2]。2004 年 Pannexins 被确认为 ATP 释放通道而非缝隙连接通道^[8]。Pannexins 与 connexins 之间的区别主要表现在①Pannexins 在不形成缝隙连接的细胞(如红细胞)中表达^[9];②Pannexins 的细胞环上存在糖基化位点,防止 2 个 Pannexins 形成缝隙连接通道^[10];③Pannexins 在与其它细胞没有接触的极化细胞的顶端膜上表达^[11];④Pannexins 和 connexins 在细胞内形成结构的方式不同(connexins 通过形成半通道与相邻细胞的半通道对接,在细胞-细胞接触区域形成缝隙连接通道,而 Pannexins 主要形成质膜通道,在细胞质和细胞外空间之间形成传导通路);⑤静止条件下 connexins 通道保持低打开状态,而 Pannexins 通道保持关闭状态,直到通过电压变化、机械刺激、细胞内钙、细胞外钾或其他刺激而暂时打开^[12]。

从结构上看,Pannexins 和 connexin、innexins 具有相似的二级和三级结构,每个亚基由 2 个细胞外环、1 个细胞内环、1 个氨基末端和 1 个羧基末端组成^[13]。Pannexins、connexins 和 innexins 的主要不同在于 Pannexins 细胞外环上存在糖基化位点,Panx-1 的糖基化位点位于第 2 个细胞外环(氨基酸 254)^[14]。有研究表明糖基化修饰在防止 2 个 pannexins 之间的缝隙连接形成方面发挥了作用,细胞表面 Panx-1 的脱糖基化显著增强功能性缝隙连接的形成^[10]。

2 Pannexin-1 对急性缺血性脑卒中的影响

Panx-1 在脊椎动物中枢神经系统中大量表达,神经锥体细胞上的表达尤其丰富。Panx-1 参与了细胞对多种病理损伤的反应,Panx-1 通道的开放、细胞外 ATP 释放和 P2X7R 的激活在诸如细胞活化、凋亡、炎症细胞因子分泌和 HIV 复制等事件中发挥重要作用。在中枢神经系统疾病中 Panx-1 对 AIS 的进展具有重要意义。

ATP 通过 P2X7R 介导的兴奋性毒性是介导脑缺血后损伤的重要机制,P2X7R 在缺氧后去极化过程中被高浓度 ATP 激活,有研究发现阻断 P2X7R 可以减轻缺血后神经元死亡和组织损伤^[15]。大量研究表明 Panx-1 与 P2X7R 存在密切相关性,有研究发现使用 P2X7R 和 Panx-1 阻滞剂或敲除 P2X7R 和 Panx-1 的小鼠神经元死亡减少,并且 P2X7R

基金项目:辽宁省科学技术计划项目(20180550012);大连市医学科学研究计划项目(19111115)

作者单位:116021 大连大学附属新华医院神经内科[刘小曼 臧福才 郎明非 崔晓蝶 白鹰(通信作者)]

拮抗剂和 Panx-1 阻滞剂的保护程度相似, P2X7R 和 Panx-1 是神经元缺氧/缺血后脑损伤的主要介质, 表明这 2 个通道位于缺血触发的同一细胞信号级联中^[16]。

NMDAR(N-甲基-D-天冬氨酸受体)是具有高钙渗透性的谷氨酸门控受体, 在不同 CNS 功能中发挥重要作用。NMDAR 的异常与多种神经系统疾病和病理状况有关, 包括脑卒中、脑缺氧、头部外伤、亨廷顿舞蹈症、帕金森病、阿尔茨海默病、癫痫、神经性疼痛、酒精中毒、精神分裂症和情绪障碍等^[17]。有研究发现在脑缺血期间谷氨酸释放的增加激活 NMDAR 会招募 Src 家族激酶(SFK)打开 Panx-1, 从而导致持续的神经元去极化。SFK 的阻滞剂通过抑制 Panx-1 的激活来减少 2 次电流^[18]。NMDAR 的激活在神经细胞死亡过程中发挥着至关重要的作用, 然而有研究发现靶向 NMDAR 的药物干预在治疗脑卒中患者的脑损害方面无效, 所有 NMDAR 拮抗剂的临床试验都因缺乏疗效暂停^[19], 但有研究发现在体内外破坏 NMDAR-Src-Panx1 信号复合物具有神经保护作用^[20], 其结果还有待进一步研究。

脑水肿为脑缺血后的严重并发症, AQP4(水通道蛋白 4)的重要作用在于维持脑组织的水盐平衡。AQP4 与脑缺血后脑水肿密切相关, 在细胞毒性水肿和血管源性水肿的形成和消除中起双重作用^[21]。有研究发现在模拟 AIS OGD(氧糖剥夺)6 h 后 AQP4 的表达水平升高, 而 Panx-1 抑制剂丙磺舒的治疗对此有抑制作用^[22]。AQP4 的调控对改善脑缺血后脑水肿和 AIS 的预后具有重大意义, 而 Panx-1 有望成为调控 AQP4 改善脑水肿的重要靶点。

3 Pannexin-1 在急性缺血性脑卒中的作用机制

静息状态下 Panx-1 被胞浆 C-末端抑制而保持关闭状态, 在细胞凋亡过程中由效应因子 caspase-3/7 裂解 C-末端而导致 Panx-1 通道开放^[23]。除了 C-末端的裂解外, Panx-1 还能在电压改变、机械刺激、细胞外 K^+ 水平增高、细胞内 Ca^{2+} 水平增高等作用下而激活^[24]。Panx-1 作为高电导非选择性膜通道, 激活后可允许各种离子和相对大的分子通过如钙、谷氨酸盐和 ATP, 而这些分子正是多种 CNS 疾病的关键作用分子^[24-25]。大孔径加上非选择性导致细胞电化梯度的快速下降和基本细胞成分的损失, 长时间或反复激活 Panx-1 通道可导致细胞死亡。

3.1 Pannexin-1 与 ATP

ATP, 一种强大的细胞信号分子, 在包括 CNS 在内的多种组织中发挥重要作用^[26]。Panx-1 通道可将 ATP 作为“find-me”信号释放给周围巨噬细胞, 而增强细胞的炎症反应。“find-me”信号 ATP 的释放以及选择性膜通透性的增加, 长期以来被认为是早期细胞凋亡的标志^[27], 而 Panx-1 通过介导 ATP 释放而参与细胞炎症反应和凋亡的产生, 有研究发现使用 Panx-1 抑制剂和 siRNA 技术抑制 Panx-1 表达能减弱 ATP 所诱导的巨噬细胞中炎症因子 IL-1 β 的释放^[28]。Panx-1 通道 ATP 的释放与细胞外 K^+ 水平密切相关, 当受到细胞外高 K^+ 水平刺激时 Panx-1 形成具有 ATP 渗透性的高电导通道(约 500 pS); 当受到低 K^+ 水平刺激时 Panx-1 形成不具有 ATP 渗透性的低电导性通道(约 50

pS)^[29]。有研究发现细胞外低 K^+ 水平导致 Panx-1 通道短暂和部分开放, ATP 释放少, 不足以触发细胞死亡^[30]。Panx-1 通道介导 ATP 的释放, 同时 ATP 对 Panx-1 也具有负反馈调节作用, 有研究发现细胞外高 ATP 水平能抑制 Panx-1 通道的活性^[31]。

3.2 Pannexin-1 与 P2X7R

各种病理刺激下细胞外 ATP 水平急剧升高激活 P2X7R, P2X7R 为 ATP 门控的非选择性阳离子通道, 属于 P2 受体家族, 允许 Ca^{2+} 、 K^+ 和 Na^+ 等离子通过。P2 受体分为 P2X 和 P2Y 亚家族, P2X 受体又分 1~7 个亚型, P2X7R 与其它 P2XR 的同源性最低(35%~40%), 参与机体多种重要的生理病理功能。P2X7R 最初被描述为 P2Z 受体或“细胞死亡”受体, 因其被高水平 ATP 激活后会诱导形成非选择性孔, 该孔允许大分子通过导致细胞死亡^[32], 而 P2X7R 诱导形成的非选择性孔很可能就是 Panx-1 通道。Panx-1 功能上与 P2X7R 和 NMDAR 密切相关, Panx-1 与 P2XR、NMDAR 之间的相互作用表现在激活的 P2X7R 或 NMDAR 均可以通过 SFK 交叉激活 Panx-1 通道, 后者通过 Panx-1 释放的 ATP 进一步增强 P2X7R 信号或 NMDAR 信号^[12]。此外, ATP 还可以通过 P2X7R 进一步激活更多的 Panx-1 通道, Panx-1 的过表达促进凋亡细胞 ATP 释放和吞噬细胞的募集。最新研究发现 Panx-1 通道的开放促使癫痫事件的发生和维持, 并且指出 Panx-1 通道是癫痫患者皮质组织中 ATP 水平升高的关键因素, Panx-1 通道通过释放进一步激活 P2X7R 的 ATP 来控制癫痫活动^[33]。

3.3 Pannexin-1 与 NLRP3

各种外源性和内源性刺激诱导先天免疫细胞(包括巨噬细胞和中性粒细胞)炎症小体的活化, 炎症小体是细胞内蛋白复合物, 其驱动含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(caspase)活化并诱导免疫应答和细胞凋亡。四种典型的炎症小体 NLRP1、NLRP3、NLRC4 和 AIM2 激活 caspase-1, 导致白介素 1 β (IL-1 β)和 IL-18 的分泌, 而 IL-1 β 被认为是急性炎症反应的发起者。在炎症小体激活后的早期细胞凋亡和成熟 IL-1 β 的分泌需要 caspase-1 的激活, 而有研究发现当不存在 caspase-1 时炎症小体也能通过激活 caspase-8 和其它 caspase 而触发非 GSDMD 依赖的次级细胞凋亡途径作为释放成熟 IL-1 的替代方法^[34]。GSDMD 是 Gasdermin 家族蛋白成员, 在外源性或内源性凋亡过程中驱动细胞裂解。最新研究证实 Panx-1 而非 GSDMD 促进 caspase-8 依赖的 NLRP3 炎症小体在细胞凋亡过程中的激活^[35]。有研究发现功能性 P2X7R 能介导 NLRP3 炎症小体组装和 NLRP3 炎症小体依赖性 IL-1 β 分泌^[36]; 最新研究还发现 Panx-1 与 P2X7R 相互作用导致细胞膜通透性增加而促进 NLRP3 炎症小体的激活^[37]。总之, Panx-1 能通过诱导 NLRP3 激活 caspase-1 或者 caspase-8 导致炎症因子 IL-1 β 的释放而诱发细胞死亡。

4 Pannexin-1 相关临床药物

甘珀酸(Carbenoxolone), 别名生胃酮, 临床主要用于消化性溃疡的治疗, 1986 年被发现可用作缝隙连接蛋白抑制

剂^[38]。2005年 Bruzzone 等人首次发现甘珀酸和氟芬那酸可抑制 Panx-1 介导的膜电流,以 connexins 和 Pannexins 通道为靶点,抑制细胞凋亡过程中 ATP 的释放^[39]。大多数缝隙连接蛋白阻滞剂包括甘珀酸、甲氟喹和氟芬那酸同时也抑制 Panx-1 的功能,这些药物并不仅作用于缝隙连接通道,还靶向其它通道包括转运蛋白和非膜蛋白^[39],甘珀酸作为众所周知的 connexins 阻滞剂对 Panx-1 通道并不具有特异性。

丙磺舒(Probenecid),别名羧苯磺胺,临床主要用于治疗痛风和作为抗生素增效剂,后被发现是一种强有力的特异性 Pannexins 通道抑制剂,对缝隙连接通道无抑制作用^[40]。最近有研究发现在使用 siRNA 降低 Panx-1 蛋白表达或使用通道阻滞剂甘珀酸(100 μ M)和丙磺舒(1 mM)抑制通道功能后人黑色素瘤细胞的生长和迁移减少,黑色素生成增加, Panx-1 在控制黑色素瘤细胞的生长和致癌特性中具有重要作用^[41]。有研究发现在模拟 AIS OGD 6 h 后丙磺舒的治疗可抑制 AQP4 的表达,改善脑水肿。此外,丙磺舒的治疗导致细胞外空间中 IL-1 β 和 HMGB1 的水平显著降低,从而抑制炎症活性,降低细胞死亡^[22]。大量动物实验研究表明,丙磺舒是一种有效的神经保护剂,但仍缺乏大型临床试验研究数据支撑该药物的使用。

曲伐沙星(Trovafloxacin),别名特伐沙星,喹诺酮类抗生素的一种。曲伐沙星对 Panx-1 的抑制作用是剂量依赖性的,与已知的 Panx-1 抑制剂丙磺舒(CBX)相当,有研究发现曲伐沙星虽然抑制凋亡细胞中 ATP 释放,但不抑制 connexin-43 和 Panx-2^[42]。最新研究发现脑损伤后曲伐沙星具有明显的抗炎和神经保护作用,并且可减轻小鼠脑损伤后引起的运动损伤^[43]。值得注意的是部分喹诺酮类药物在各大系统中存在无法解释的副作用(发生率可达 5%)^[44],其中肝脏毒性最为突出,可出现氨基转移酶水平升高、肝炎症状、严重肝损害和肝衰竭。有研究表明曲伐沙星造成药物性肝损伤的部分原因在于其延迟了肝对单核细胞和中性粒细胞的募集,而白细胞延迟募集的原因之一就在于曲伐沙星对 Panx-1 通道的抑制作用^[45]。因此,通过其对 Panx-1 的特异性抑制作用而用于 AIS 的神经保护治疗仍然存在争议。

螺内酯(Spironolactone),别名安体舒通,醛固酮的竞争性抑制剂,临床主要用于对一线疗法有抵抗力的高血压病治疗。最新研究发现 Panx-1 通道可能是螺内酯的体内靶标。螺内酯抑制小鼠和高血压病患者小动脉中 α -肾上腺素的血管收缩作用取决于平滑肌 Panx-1,而不是盐皮质激素受体 NR3C2,即螺内酯可急剧降低血压,取决于平滑肌细胞上 Panx-1 的表达,而与 NR3C2 无关。螺内酯及其代谢产物和类似物均可抑制 Panx-1,但不抑制 Panx-2 和 Panx-3 的表达^[46],Panx-1 有望成为耐药性高血压病患者的潜在治疗靶标。

其它影响 Panx-1 通道的临床药物还包括氯离子通道阻滞剂、P2X7R 抑制剂、炎症小体抑制剂、抗疟疾药物等,大量研究仍在继续寻找仅特异性作用于该蛋白的临床有效药物。

5 总 结

在中枢神经系统疾病中 Panx-1 对 AIS 的进展具有重大

意义。AIS 脑组织缺血损伤后外周神经元持续去极化,触发突触前神经元 ATP 释放,高水平细胞外 ATP 激活 P2X7R,导致 Panx-1 通道开放,该通道进一步释放 ATP,触发一系列细胞反应,最终加重组织损伤。Panx-1 通道作为 AIS 病理损伤过程中的重要发生环节,有望成为改善该病及其它神经系统疾病预后的新的有效治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China: results from a nationwide Population-Based survey of 480 687 adults[J]. *Circulation*, 2017, 135(8):759-771.
- [2] Bruzzone R, Hormuzdi SG, Barbe MT, et al. Pannexins, a family of gap junction proteins expressed in brain[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(23):13644-13649.
- [3] Laird DW. Life cycle of connexins in health and disease[J]. *Biochem J*, 2006, 394(Pt 3):527-543.
- [4] Macvicar BA, Thompson RJ. Non-junction functions of pannexin-1 channels[J]. *Trends Neurosci*, 2010, 33(2):93-102.
- [5] Esseltine JL, Laird DW. Next-Generation connexin and pannexin cell biology[J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(12):944-955.
- [6] Panchin Y, Kelmanson I, Matz M, et al. A ubiquitous family of putative gap junction molecules[J]. *Current Biology*, 2000, 10(13):R473-R474.
- [7] Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new Generation of protein database search programs[J]. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(17):3389-3402.
- [8] Bao L, Locovei S, Dahl G. Pannexin membrane channels are mechanosensitive conduits for ATP[J]. *FEBS Lett*, 2004, 572(1/3):65-68.
- [9] Locovei S, Bao L, Dahl G. Pannexin 1 in erythrocytes: function without a gap[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(20):7655-7659.
- [10] Boassa D, Qiu F, Dahl G, et al. Trafficking dynamics of glycosylated pannexin 1 proteins[J]. *Cell Commun Adhes*, 2008, 15(1):119-132.
- [11] Ransford GA, Fregien N, Qiu F, et al. Pannexin 1 contributes to ATP release in airway epithelia[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009, 41(5):525-534.
- [12] Li S, Bjelobaba I, Stojilkovic SS. Interactions of pannexin1 channels with purinergic and NMDA receptor channels[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*, 2018, 1860(1):166-173.
- [13] Dahl G, Keane RW. Pannexin: from discovery to bedside in 11 \pm 4 years? [J]. *Brain Research*, 2012, 1487:150-159.
- [14] Penuela S, Bhalla R, Nag K, et al. Glycosylation regulates pannexin intermixing and cellular localization[J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(20):4313-4323.
- [15] Arbeloa J, Pérez-Samartín A, Gottlieb M, et al. P2X7 receptor blockade prevents ATP excitotoxicity in neurons and reduces brain damage after ischemia[J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 45(3):954-961.
- [16] Cisneros-Mejorado A, Gottlieb M, Cavaliere F, et al. Blockade

- of P2X7 receptors or pannexin-1 channels similarly attenuates postischemic damage[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(5):843-850.
- [17] Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2001, 11(3):327-335.
- [18] Weilinger NL, Tang PL, Thompson RJ. Anoxia-induced NMDA receptor activation opens pannexin channels via Src family kinases[J]. *J Neurosci*, 2012, 32(36):12579-12588.
- [19] Ikonomidou C, Turski L. Why did NMDA receptor antagonists fail clinical trials for stroke and traumatic brain injury? [J]. *The Lancet Neurology*, 2002, 1(6):383-386.
- [20] Weilinger NL, Lohman AW, Rakai BD, et al. Metabotropic NMDA receptor signaling couples Src family kinases to pannexin-1 during excitotoxicity[J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(3):432-442.
- [21] 符师宁, 胡丹辰, 闫军浩. 水通道蛋白 4 在脑缺血后脑水肿中的作用[J]. *生理科学进展*, 2016, 47(5):361-364.
- [22] Jian Z, Ding S, Deng H, et al. Probenecid protects against oxygen-glucose deprivation injury in primary astrocytes by regulating inflammasome activity[J]. *Brain Res*, 2016, 1643: 123-129.
- [23] Sandilos JK, Chiu YH, Chekeni FB, et al. Pannexin 1, an ATP release Channel, is activated by caspase cleavage of its pore-associated C-terminal autoinhibitory region[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(14):11303-11311.
- [24] Bravo D, Maturana CJ, Pelissier T, et al. Interactions of pannexin 1 with NMDA and P2X7 receptors in central nervous system pathologies: Possible role on chronic pain[J]. *Pharmacological Research*, 2015, 101:86-93.
- [25] Dahl G. ATP release through pannexon channels[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2015, 370(1672):20140191.
- [26] Scemes E, Velišková J. Exciting and not so exciting roles of pannexins[J]. *Neuroscience Letters*, 2019, 695:25-31.
- [27] Chekeni FB, Elliott MR, Sandilos JK, et al. Pannexin 1 channels mediate 'find-me' signal release and membrane permeability during apoptosis[J]. *Nature*, 2010, 467(7317):863-867.
- [28] Pelegrin P, Surprenant A. Pannexin-1 mediates large pore formation and interleukin-1 β release by the ATP-gated P2X7 receptor[J]. *EMBO J*, 2006, 25(21):5071-5082.
- [29] Wang J, Ambrosi C, Qiu F, et al. The membrane protein Pannexin1 forms two open-channel conformations depending on the mode of activation[J]. *Sci Signal*, 2014, 7(335):ra69.
- [30] Yang DH, He Y, Munoz-Planillo R, et al. Caspase-11 requires the pannexin-1 Channel and the purinergic P2X7 pore to mediate pyroptosis and endotoxic shock[J]. *Immunity*, 2015, 43(5):923-932.
- [31] Qiu F, Dahl G. A permeant regulating its permeation pore: inhibition of pannexin 1 channels by ATP[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 296(2):C250-C255.
- [32] Surprenant A, Rassendren F, Kawashima E, et al. The cytolytic P2Z receptor for extracellular ATP identified as a P2X receptor (P2X7)[J]. *Science*, 1996, 272(5262):735-738.
- [33] Dossi E, Blauwblomme T, Moulard J, et al. Pannexin-1 channels contribute to seizure Generation in human epileptic brain tissue and in a mouse model of epilepsy[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(443):eaar3796.
- [34] Schneider KS, Groß CJ, Dreier RF, et al. The inflammasome drives GSDMD-Independent secondary pyroptosis and IL-1 release in the absence of caspase-1 protease activity[J]. *Cell Rep*, 2017, 21(13):3846-3859.
- [35] Chen KW, Demarco B, Heilig R, et al. Extrinsic and intrinsic apoptosis activate pannexin-1 to drive NLRP3 inflammasome assembly[J]. *EMBO J*, 2019, 38(10):e101638.
- [36] Karmakar M, Katsnelson MA, Dubyak GR, et al. Neutrophil P2X7 receptors mediate NLRP3 inflammasome-dependent IL-1 β secretion in response to ATP[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:10555.
- [37] Chen KW, Demarco B, Broz P. Pannexin-1 promotes NLRP3 activation during apoptosis but is dispensable for canonical or noncanonical inflammasome activation [J]. *Eur J Immunol*, 2020, 50(2):170-177.
- [38] Davidson JS, Baumgarten IM, Harley EH. Reversible inhibition of intercellular junctional communication by glycyrrhetic acid [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1986, 134(1):29-36.
- [39] Bruzzone R, Barbe MT, Jakob NJ, et al. Pharmacological properties of homomeric and heteromeric pannexin hemichannels expressed in *Xenopus* oocytes[J]. *J Neurochem*, 2005, 92(5):1033-1043.
- [40] Silverman W, Locovei S, Probenecid DG, et al. Inhibits pannexin 1 channels[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 295(3):C761-C767.
- [41] Freeman TJ, Sayedyahosseini S, Johnston D, et al. Inhibition of pannexin 1 reduces the tumorigenic properties of human melanoma cells[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(1):102.
- [42] Poon IK, Chiu YH, Armstrong AJ, et al. Unexpected Link between an antibiotic, pannexin channels and apoptosis[J]. *Nature*, 2014, 507(7492):329-334.
- [43] Garg C, Seo JH, Ramachandran J, et al. Trovafloxacin attenuates neuroinflammation and improves outcome after traumatic brain injury in mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1):42.
- [44] Liu HH. Safety profile of the fluoroquinolones: focus on levofloxacin[J]. *Drug Safety*, 2010, 33(5):353-369.
- [45] Giustarini G, Vriscenko N, Kruijssen L, et al. Trovafloxacin-Induced liver injury: lack in regulation of inflammation by inhibition of nucleotide release and neutrophil movement[J]. *Toxicol Sci*, 2019, 167(2):385-396.
- [46] Good ME, Chiu YH, Poon IKH, et al. Pannexin 1 channels as an unexpected new target of the Anti-Hypertensive drug spirinolactone[J]. *Circ Res*, 2018, 122(4):606-615.

(2019-12-14 收稿)