

心肌细胞离子通道 电生理学研究

孙娟 冯艳 毛山 ▲ 主编



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>

心肌细胞离子通道 电生理学 研究

◆ 编 委 会 ◆

主 编

孙 娟 新疆医科大学第一附属医院
冯 艳 新疆维吾尔自治区人民医院
毛 山 湖北医药学院附属太和医院

副主编

艾尼娃尔·艾克木 新疆医科大学
巧丽番·阿力哈孜 新疆医科大学第一附属医院
杨 洋 华中科技大学同济医学院附属武汉市中心医院
王颂扬 湖北省中医院
胡龙才 湖北省通城县人民医院
李志丹 丹江口市第一医院

编 委

娜几娜·吾格提	新疆医科大学第一附属医院	谭利国	湖北医药学院附属人民医院
阿迪拉·阿扎提	新疆医科大学第一附属医院	梁锦军	武汉大学人民医院
姚 维	随州市中心医院	陈 阵	武汉大学人民医院
王 能	随州市中心医院	易莉莎	华中科技大学同济医学院附属协和医院
吕 宏	新疆自治区职业病医院	黄 婷	华中科技大学同济医学院附属武汉市中心医院
黄 祎	武警湖北省总队医院	吴 冰	湖北医药学院附属人民医院
万为国	武汉大学人民医院	杨 简	三峡大学第一临床医学院
任浩进	武汉市普仁医院	张炳山	无锡市人民医院
沈 波	武汉大学人民医院	范新荣	成都市第三人民医院
李 喆	武汉大学人民医院	王徐乐	郑州大学第一附属医院



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>

中国·武汉

内 容 简 介

本书系统介绍了心肌细胞离子通道学所包括的理论知识和相关的实验技术,内容包括离子通道领域各个方面重要的研究成果,并且对离子通道电生理学和膜片钳技术的最新进展进行了详细的介绍。

本书具有较高的学术参考价值,适合在这一领域有一定经验的研究人员、研究生和中级以上临床医生阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

心肌细胞离子通道电生理学研究/孙娟,冯艳,毛山主编. —武汉:华中科技大学出版社, 2015.9

ISBN 978-7-5680-1227-0

I. ①心… II. ①孙… ②冯… ③毛… III. ①心肌-细胞-电生理学-研究
IV. ①R331.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 222538 号

心肌细胞离子通道电生理学研究

孙 娟 冯 艳 毛 山 主 编

策划编辑:居 颖

责任编辑:孙基寿

封面设计:范翠璇

责任校对:马燕红

责任监印:朱 玟

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)81321913

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:虎彩印艺股份有限公司

开 本:710mm×1000mm 1/16

印 张:10

字 数:201千字

版 次:2015年9月第1版第1次印刷

定 价:38.00元



华中科大

本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换
全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务
版权所有 侵权必究

前言

Qianyan

心律失常是严重威胁人类健康的心脏疾病,恶性心律失常已经成为导致人类死亡的主要原因。近几年,随着膜片钳技术和分子克隆技术的发展,对抗心律失常药物作用机制的研究取得了较大进展,很多研究认为心肌细胞膜上各种离子通道结构和功能的异常所引起离子流的变化已经成为近年来心律失常发生机制及防治研究的焦点。

基因组学的研究进展,使通道病的发现与研究成为可能,而通道病的发现,进一步提示通道的结构和功能的关系,从而促进了对通道结构中以往忽略部分的深入研究,这也正是本书所关注之处。心肌细胞离子通道受多个时间和空间层面的调节,第二信使、激素、神经介质、酶、磷酸化和辅助亚基等都可以对通道蛋白质的结构和功能进行调控,调节因子之间还存在相互作用,因此必须更好地明确心肌细胞离子通道和其他心肌细胞蛋白如何被内、外环境调节,是什么因素决定着离子流的流向、流态、流速等,要从整体角度理解心肌细胞电生理活动。

本书系统介绍了心肌细胞离子通道学所包括的理论知识和相关的实验技术,侧重于近年来心肌细胞离子通道电生理学研究的最新进展,适用于在这一领域有一定经验的研究人员、研究生和中级以上临床医生。

尽管在编写过程中我们力求完美,但限于编者知识水平,书中难免存在不足之处,敬请广大读者和同行批评指正。

编者

目录

Mulu

第一章 细胞膜的结构和电活动	/ 1
第一节 细胞膜的结构概述	/ 1
第二节 细胞的电活动	/ 2
一、膜的被动电学特性和电紧张电位	/ 2
二、静息电位及其产生机制	/ 3
三、动作电位及其产生机制	/ 4
四、局部电位	/ 5
五、可兴奋细胞及其兴奋性	/ 5
第二章 心肌细胞的生物电现象和生理特征	/ 7
第一节 正常心肌细胞的跨膜电位	/ 8
一、静息电位	/ 8
二、动作电位	/ 9
第二节 心肌细胞的电生理特性	/ 12
第三节 不同部位心肌细胞的跨膜电位及机理	/ 20
一、心室肌细胞跨膜电位及其产生的机理	/ 20
二、浦肯野细胞的跨膜电位及其产生机理	/ 20
三、窦房结 P 细胞跨膜电位及其产生机理	/ 21



第三章 离子通道的细胞和分子电生理学	/ 23
第一节 离子通道发展研究历程	/ 23
一、生物膜早期研究	/ 23
二、离子通道经典研究时期	/ 24
三、生物膜离子通道飞跃发展时期	/ 24
第二节 离子通道特征与分类	/ 24
第三节 离子通道生理功能	/ 27
第四节 作用于离子通道的药物	/ 27
一、作用于钠通道的药物	/ 27
二、作用于钾通道的药物	/ 28
三、作用于钙通道的药物	/ 28
第五节 临床上调节离子通道的药物	/ 29
一、钙通道及其阻滞药	/ 30
二、电压依赖性钠通道的分类及阻滞剂	/ 31
三、钾通道的分类、特点及调节药物	/ 32
第六节 心肌细胞离子通道	/ 33
一、钙通道	/ 33
二、钾通道	/ 34
三、钠通道	/ 37
四、氯通道	/ 37
五、 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交换体	/ 38
第七节 离子通道的实验研究方法	/ 38
一、电压钳技术	/ 38
二、膜片钳技术	/ 39
三、全自动膜片钳技术	/ 40
四、穿孔膜片钳技术	/ 40
第八节 离子通道满足的基本物理化学定律	/ 41
一、欧姆定律	/ 41



二、能斯特方程	/ 42
三、米氏动力学方程	/ 43
第九节 离子通道的理论研究方法	/ 44
一、分子模拟方法	/ 45
二、离子通道门控机制的理论研究方法	/ 45
三、离子通道通透性的理论研究方法	/ 46
第四章 离子浓度对单一周期心肌细胞电生理的影响	/ 49
第一节 钾的影响	/ 49
一、高血钾对心肌细胞电生理的影响	/ 49
二、低血钾对心肌细胞电生理的影响	/ 50
第二节 钠的影响	/ 51
一、高钠对心肌细胞电生理的影响	/ 51
二、低钠对心肌细胞电生理的影响	/ 52
第三节 钙的影响	/ 52
一、高钙对心肌细胞电生理的影响	/ 52
二、低钙对心肌细胞电生理的影响	/ 53
第五章 心肌细胞钙通道及 Ca^{2+} 循环	/ 55
第一节 钙通道的分类	/ 55
第二节 心肌细胞中的 Ca^{2+} 循环	/ 56
一、L型钙通道	/ 56
二、T型钙通道	/ 56
三、钙释放通道	/ 57
四、钙摄取通道	/ 63
第三节 心脏钙通道疾病	/ 68
一、遗传相关性钙通道疾病	/ 68
二、非遗传性钙通道疾病	/ 70
第六章 心肌细胞钠通道	/ 76
第一节 钠通道的分类和功能	/ 76



第二节	心脏钠通道病	/ 81
一、	遗传性钠通道病	/ 81
二、	非遗传性钠通道疾病	/ 85
第七章	心肌细胞钾通道	/ 87
第一节	钾通道的分类	/ 87
第二节	钾通道基因类型	/ 88
第三节	钾通道的结构	/ 90
第四节	钾通道的功能	/ 93
第五节	心脏钾通道疾病	/ 94
一、	遗传性钾通道疾病	/ 95
二、	非遗传性钾通道疾病	/ 96
第八章	心肌细胞离子通道与抗心律失常药物研究	/ 103
一、	钠通道的调节	/ 104
二、	钙通道的调节	/ 104
三、	钾通道的调节	/ 105
第九章	膜片钳技术	/ 107
第一节	膜片钳技术基本原理与特点	/ 108
第二节	膜片钳记录的几种形式	/ 110
第三节	膜片钳技术在心血管研究中的应用	/ 112
第四节	膜片钳实验过程	/ 118
一、	标本制备	/ 118
二、	电极制备	/ 119
三、	膜片钳实验系统	/ 120
四、	实验要求	/ 120
五、	进行实验,记录和分析数据	/ 121
第十章	心室肌细胞电生理异质性	/ 123
第一节	心室肌细胞电生理异质性的形成机制	/ 125
第二节	M细胞的电生理学特征及离子流基础	/ 126



一、M 细胞的电生理特征	/ 126
二、M 细胞电生理特性的离子流基础	/ 127
第十一章 心肌细胞电生理建模和电活动的离子机制	/ 128
第十二章 用于膜片钳记录的心肌细胞急性分离	/ 133
第一节 溶液的配制	/ 133
第二节 单个心肌细胞的分离技术	/ 135
一、Langendorff 灌流法分离犬心房肌细胞	/ 135
二、Langendorff 灌流法分离犬心室肌细胞	/ 136
三、Bustamante 两步酶解法分离心房肌和心室肌细胞	/ 136
四、Langendorff 灌流法分离大鼠心室肌细胞	/ 137
五、新生大鼠心肌细胞分离	/ 137
六、两步酶解法分离兔左室壁三层心肌细胞	/ 138
第十三章 离子通道学进展	/ 139
第一节 离子通道学研究的新技术	/ 139
一、X-射线晶体衍射技术在离子通道研究中的应用	/ 139
二、核磁共振技术在离子通道研究中的应用	/ 140
三、质谱、芯片技术和蛋白质组技术在离子通道研究中的应用	/ 140
四、高通量膜片钳系统的应用	/ 141
五、单分子荧光技术和实时分光技术	/ 142
六、离子通道研究中的生物纳米技术的应用	/ 142
第二节 利用生物物理学及结构学方法的高通量性发现新的离子通道组分	/ 143
第三节 离子通道能否直接作为治疗靶点	/ 143
第四节 离子通道作为治疗靶点应注意的问题	/ 144
第五节 疾病与离子通道功能之间的关系	/ 145
参考文献	/ 146

第一章

细胞膜的结构和电活动

第一节 细胞膜的结构概述

机体的每个细胞都被一层薄膜所包被,称为细胞膜。细胞膜主要由脂质和蛋白质组成,此外还有少量的糖类物质。Singer 和 Nicholson 于 1972 年提出了液态镶嵌模型,即膜的基架是液态的脂质双分子层,其中镶嵌着许多具有不同结构和功能的蛋白质。

1. 脂质双分子层

(1) 成分 膜脂质主要由磷脂、胆固醇和少量糖脂构成。

(2) 结构 磷脂、胆固醇和糖脂都是一些双嗜性分子,这些分子以脂质双层的形式存在于质膜中,亲水端朝向细胞外液或胞质,疏水的脂肪酸烃链则彼此相对,形成膜内部的疏水区。

(3) 特点 ①流动性;②稳定性。

2. 细胞膜蛋白

根据膜蛋白在膜上存在的形式,可分为表面蛋白和整合蛋白两类。与物质跨膜转运功能有关的功能蛋白,如载体、通道,都属于整合蛋白。细胞膜的功能主要是通过膜蛋白来实现的,膜蛋白的种类及含量越多,该细胞的功能也就越



复杂。

3. 细胞膜的糖类

细胞膜所含糖类甚少,主要是一些寡糖和多糖链,它们以共价键的形式和膜脂质或膜蛋白结合,形成糖脂或糖蛋白。结合于糖脂或糖蛋白上的糖链仅存在于膜的外侧,通常具有受体或抗原的功能。

第二节 细胞的电活动

活细胞无论处于安静状态还是活动状态都存在电的活动,这种电活动称为生物电。人体和各器官表现的电现象,是以细胞水平的生物电现象为基础的,而细胞生物电又是细胞膜两侧带电离子的不均匀分布和一定形式的跨膜移动的结果。

一、膜的被动电学特性和电紧张电位

1. 膜电容

细胞膜具有显著的电容特性,且膜电容较大;当膜上的离子通道开放而引起带电离子的跨膜流动时,就相当于在电容器上充电或放电,从而在膜两侧产生电位差,即跨膜电位,简称膜电位。

2. 膜电阻

通常用膜电阻的倒数膜电导 G 来表示。对带电离子而言,膜电导是膜对离子通透性的观测指标;细胞膜对某离子电导的变化与其对该离子的通透性的变化是完全一致的。

3. 轴向电阻

轴向电阻沿细胞的长轴存在,数值取决于胞质本身的电阻和细胞的直径;细胞直径越大,轴向电阻越小。



4. 电紧张电位

由膜的被动电学特性决定其空间分布的膜电位称为电紧张电位。电紧张电位的幅度达到一定水平时,就会引起相当多的钠通道或钙通道的激活,从而引发动作电位;细胞膜电紧张电位发生的速度和扩布的范围也是影响动作电位产生和传播的重要因素。

二、静息电位及其产生机制

1. 细胞的静息电位

(1) 概念 静息时,质膜两侧存在着外正内负的电位差称为静息电位(resting potential, RP)。

(2) 特征 ①通常是平稳的直流电位;②不同细胞静息电位的数值可以不同,并且只要细胞未受刺激、生理条件不变,这种电位将持续存在。

(3) 注意 ①平稳的静息电位存在时细胞膜电位外正、内负的状态称为极化;②静息电位(的绝对值)增大的过程或状态称为超极化;③静息电位(的绝对值)减小的过程或状态称为去极化或除极化;④去极化至零电位后膜电位如进一步变为正值,则称为反极化,膜电位高于零电位的部分称为超射;⑤细胞膜去极化后再向静息电位方向恢复的过程,称为复极化。

2. 静息电位产生的机制

(1) 膜学说 1902年 Bernstein 认为生物电现象的各种表现,主要是由于细胞内外离子分布不均匀以及在不同状态下,细胞膜对不同离子的通透性不同所造成的。

(2) 机制 RP 主要是由 K^+ 外流所形成的,非常接近于 K^+ 的平衡电位。

(3) 影响 RP 的因素 ①细胞外 K^+ 浓度的改变;②膜对 K^+ 和 Na^+ 的相对通透性,如膜对 K^+ 的通透性相对增大,RP 则增大;③钠泵活动的水平,如活动增强将使膜发生一定程度的超极化。



三、动作电位及其产生机制

1. 细胞的动作电位

(1) 概念 在 RP 的基础上,给细胞一个适当的刺激,可触发其产生可传播的膜电位波动,称为动作电位(action potential, AP)。

(2) 组成 其主要部分表现为尖峰状的电位变化,称为峰电位;峰电位具有动作电位的主要特征,是动作电位的标志。在峰电位后出现的膜电位低幅而缓慢的波动,称为后电位;后电位又分为负后电位(后去极化)和正后电位(后超极化)。

(3) 特征 ①“全或无”特性;②不衰减性传播。

2. 动作电位的产生机制

(1) 电化学驱动力 当某种离子跨膜扩散时,它受到来自浓度差和电位差的双重驱动力,两种驱动力的代数和称为电化学驱动力。当电化学驱动力推动正电荷由膜外流入膜内时,这一方向的离子电流,称为内向电流;当电化学驱动力推动正电荷由膜内流出膜外时,这一方向的离子电流,称为外向电流。内向电流使膜去极化,而外向电流则使膜复极化或超极化。

(2) 动作电位产生的过程

①峰电位的上升支 接近于 Na^+ 的平衡电位。

②峰电位的下降支 K^+ 外流所致。

③后电位 包括负后电位和正后电位:负后电位一般认为是在复极时迅速外流的 K^+ 蓄积在膜外侧附近,暂时阻碍了 K^+ 外流所致;正后电位一般认为是生物电性钠泵作用的结果。

(3) 阈电位 能进一步诱发动作电位的去极化的临界值,称为阈电位(threshold potential)。

3. 动作电位的传播

在无髓鞘神经纤维和肌纤维等细胞上,动作电位以局部电流的方式传播。



在有髓鞘神经纤维上,局部电流仅在郎飞结之间发生,这种传导方式称为跳跃式传导,其传导快且“节能”。

4. 缝隙连接

缝隙连接处膜的电阻很小,一个细胞产生的动作电位可通过流经缝隙连接的局部电流直接传播到另一个细胞,使兴奋得以在细胞间直接传播。

四、局部电位

当去极化的刺激很弱时, Na^+ 通道并未被激活,仅在膜的局部产生电紧张电位;当去极化刺激稍强时,可引起少量的 Na^+ 通道激活和内向离子电流,在受刺激局部出现一个较小的膜的去极化,与电紧张电位叠加,这种产生于膜的局部、较小的去极化反应称为局部反应(local response),产生的电位称为局部电位。

局部电位的特点:等级性;电紧张传播,强度随传播距离增加而衰减;没有不应期。

五、可兴奋细胞及其兴奋性

1. 兴奋性和可兴奋细胞

兴奋性是指细胞受到刺激后产生动作电位的能力,而兴奋已被看作是动作电位的同义语或动作电位产生的过程。凡在接受刺激后能产生动作电位的细胞,均称为可兴奋细胞。一般认为,神经细胞、肌肉细胞和腺细胞都属于可兴奋细胞。

2. 阈刺激

刺激是指能引起组织细胞发生反应的各种内外环境的变化。任何刺激要引起组织兴奋必须使刺激的强度、刺激的持续时间以及刺激强度对时间的变化率达到某个最低有效值。刺激的这三个参数是互相影响的,当其中一个发生改变时,其余的也会发生相应的变化。在刺激的持续时间以及刺激强度对时间的



变化率不变的情况下,刚能引起细胞兴奋或产生动作电位的最小刺激强度,称为阈强度,此时的刺激称为阈刺激。比阈刺激弱的刺激称为阈下刺激;比阈刺激强的刺激称为阈上刺激。阈刺激或阈强度(阈值)一般可作为衡量细胞兴奋性的指标,二者呈反比关系。

3. 细胞兴奋后兴奋性的变化

细胞在发生一次兴奋后,其兴奋性会出现一系列变化,依次分为绝对不应期、相对不应期、超常期和低常期。它们与动作电位各时期的关系是:绝对不应期大约相当于峰电位发生的时期;相对不应期和超常期大约相当于负后电位出现的时期;低常期则相当于正后电位出现的时期。

第二章

心肌细胞的生物电现象 和生理特征

心肌细胞电生理是研究心肌细胞电学活动即正常和异常情况下兴奋发生和传播的规律,主要研究内容是心肌细胞的离子通道及其离子流。离子通道是细胞膜上的特殊整合蛋白,在脂质双分子层上构成具有高度选择性的亲水性孔道,允许适当大小和电荷的离子以被动转运的方式通过。离子通道是细胞膜上的一类特殊亲水性蛋白质微孔道,是神经、肌肉细胞电活动的物质基础。

离子通道的主要功能如下:①提高细胞内钙浓度,从而触发肌肉收缩、细胞兴奋、腺体分泌、 Ca^{2+} 依赖性离子通道开放和关闭、蛋白激酶的激活和基因表达的调节等一系列生理效应;②在神经、肌肉等兴奋性细胞, Na^+ 和 Ca^{2+} 通道主要调控去极化, K^+ 主要调控复极化和维持 RP,从而决定细胞的兴奋性、不应性和传导性;③调节血管平滑肌舒缩活动,其中有 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 通道和某些非选择性阳离子通道参与;④参与突触传递,其中有 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 通道和某些非选择性阳离子通道参与;⑤维持细胞正常体积,在高渗环境中,离子通道和转运系统激活使 Na^+ 、 Cl^- 、有机溶液和水分进入细胞内而调节细胞体积,使其增大;在低渗环境中, Na^+ 、 Cl^- 、有机溶液和水分流出细胞而调节细胞体积,使其减小。

心肌细胞的类型包括如下几种。

(1) 工作细胞 心房肌、心室肌细胞,为快反应细胞,具有兴奋性、传导性、



收缩性、无自律性。

(2) 特殊传导系统 具有兴奋性、传导性、自律性(除结区),但无收缩性。特殊传导系统包括:①窦房结、房室交界(房结区、结希区)-慢反应细胞。其中,房室交界的结区细胞无自律性,传导速度最慢,是形成房-室延搁的原因。②房室束、左右束支、浦肯野纤维-快反应细胞。

(3) 区分快反应细胞和慢反应细胞的标准 动作电位 0 期上升的速度。快反应细胞 0 期去极化速度快。多由 Na^+ 内流形成,慢反应细胞 0 期去极化速度慢,由 Ca^{2+} 内流形成。

第一节 正常心肌细胞的跨膜电位

心肌细胞的生物电现象表现为细胞膜内外的电位变化,称为跨膜电位,或简称膜电位。心肌细胞的膜电位以跨膜离子活动所形成的离子电流为基础,可应用细胞内微电极和电压钳技术等方法测量描记。心肌细胞的膜电位包括安静时的静息电位和兴奋时的 AP。离子电流是带电荷离子从膜的离子通道弥散所形成的,它根据离子的种类和性质及其弥散的方向和速度而有所不同。心肌细胞的跨膜离子电流可分为内向离子电流和外向离子电流,一般以正离子为依据。内向电流由正离子内流所形成,它使膜内电位升高,有去极化作用。外向电流由正离子外流所形成,它使膜内电位降低,具有复极化作用。

一、静息电位

人体和哺乳类动物心室肌细胞在安静状态时保持相对稳定的跨膜电位差,膜内电位约 -90 mV ,称为静息电位。在此期间膜的内、外两侧由于带电荷离子集中而形成外正、内负的极化状态。静息电位是离子电流所形成的一种稳态电位,其中以钾外流最为重要。在安静状态时,心肌细胞膜对钾的通透性高,钾离子可以自由通过。细胞内钾浓度远比细胞外为高(约为 $30 : 1$)。膜内、外的