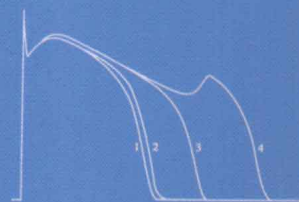
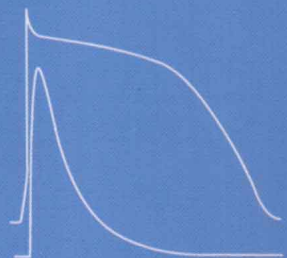


心肌细胞离子通道和通道病 研究进展

刘泰榘 编著

第2版



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

心肌细胞离子通道和通道病 研究进展

刘泰樞 编著

第2版

人民卫生出版社



图书在版编目 (CIP) 数据

心肌细胞离子通道和通道病研究进展/刘泰樾编著.
—2 版. —北京:人民卫生出版社,2012. 2

ISBN 978-7-117-14997-6

I. ①心… II. ①刘… III. ①心肌-细胞-离子通道-研究②心脏病-研究 IV. ①R331. 3②R542. 2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 214679 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有，侵权必究！

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 20 插页: 12

字 数: 499 千字

版 次: 2006 年 11 月第 1 版 2012 年 2 月第 2 版第 2 次印刷

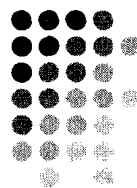
标准书号: ISBN 978-7-117-14997-6/R·14998

定 价: 48.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

序 言



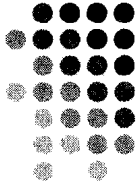
自从《心肌细胞离子通道和通道病》出版以来已经5年。5年时间不算长,但是对于科学研究的进展来说,可以说是一个阶段。当前知识更新非常之快,5年来的科研报道数量几乎以等比级数上升。按照循证医学的要求,也是5年为期的。作为一本书的修订版,要增加的内容是很多的。

在写作中,考虑最新进展与历史背景的关系,是很费心思的。完全不顾以往的背景,重打鼓另开张,那就是再写一本新书,显然不是修订本书的目的。还是要按照前一版的前言所说“侧重近年来的研究进展,同时照顾历史发展”的原则。可是这个侧重就是很重了,要占据主要部分。历史(前一版)部分也要有一定位置,使读者对科研进程有一个了解,这对问题的思考会很有帮助和启发。此次修订,删去了原来第二章和第十章,关于心律失常的发生机制的基本原理的叙述,因为这一部分的研究进展并不多,而以前的内容已经为读者所熟知。此次将原来钾通道这1章扩充为3章,这是因为钾离子的种类最多,进展也很快,放在一起篇幅过大,查阅起来很不方便。另外本次增加了3章:钠钾泵,肌质网与钙掌控和心脏各部分心肌细胞的离子通道分布。这是因为肌质网虽然不在细胞膜上,但是它与钙通道和钠钙交换体密切联系,是细胞内钙掌控的核心部位,而它的异常能导致严重心律失常。以往的研究多以心室肌细胞为对象,各种离子通道的研究也是以心室肌上的通道为重点。近年来心脏其他部分心肌细胞离子通道和心律失常的研究广受人们的关注,研究报告明显增多。虽然通道的种类差异,彼此间并不太大,而作为整个细胞的活动,却有较大差别。如果不对心肌细胞的离子通道分布进行介绍,就会显得有重要疏漏。

最后,虽然是老话,却是真诚发自内心的。“由于研究进展之快,文献报道之多,写作内容的取舍,难免有所疏漏或不当,若蒙读者指正,实感幸甚。”

刘泰燧于北大燕园

2011年8月



目 录

第一章 绪论	1
第一节 心肌细胞离子流和离子通道研究的发展历史	1
一、功能研究时期	1
二、分子结构研究时期	3
三、后基因组时期	5
第二节 通道病	5
第三节 离子通道的生成与降解	6
第四节 离子通道的重构	7
第五节 离子通道复合体	8
第二章 钠离子通道	10
第一节 钠通道的分子结构	11
一、 α 亚单位	11
二、 β 亚单位	14
第二节 钠通道的合成、运输与降解	14
第三节 钠通道与细胞内蛋白形成复合体	17
一、锚蛋白	17
二、 Ca^{2+} , CaM 和 CaMKII	21
三、Syntrophin	22
四、小窝与小窝蛋白	23
第四节 钠通道的电生理学特性	26
一、钠通道的门控电流	27
二、心肌细胞的钠离子流 I_{Na}	28
三、心肌细胞 I_{Na} 的不完全失活与晚电流	29
四、 I_{Na} 的失活机制	30
五、毒素与药物对 I_{Na} 的影响	36
第五节 钠通道病:基因突变导致的严重心律失常	37
一、长 QT 综合征	38
二、Brugada 综合征	44
三、心脏传导缺陷	48

四、病态窦房结综合征	49
五、心房纤颤	49
第六节 钠通道在疾病情况下的重构	51
一、心肌缺血时的钠通道重构和 I_{Na} 的改变	51
二、心力衰竭时钠通道的重构	54
三、心房纤颤时的钠通道重构	54
第三章 钙通道	61
第一节 钙通道的分子结构	62
一、钙通道的亚单位	64
二、 $Ca_v1.2$ 在心室肌细胞膜上的分布	64
第二节 心肌细胞 L-型钙通道电流的电生理学特性	65
一、L-型钙通道的离子流与单通道电流	65
二、钙通道 $Ca_v1.2$ 失活的机制	67
第三节 作为复合体的钙通道	70
一、CaM 及 CaMK II 与 $Ca_v1.2$ 的结合	70
二、AKAP 与 $Ca_v1.2$ 的结合	74
第四节 心肌细胞的钙通道病	82
一、LQT8	82
二、SQT4 与 SQT5	84
第五节 疾病情况下的 $Ca_v1.2$ 的重构	85
第六节 T-型钙通道	86
第四章 钾通道(上)总论及延迟整流钾离子流	93
第一节 总论	93
一、 K_v 钾通道的分子结构及功能概述	93
二、 K_v 家族的辅助亚单位	98
第二节 延迟整流钾电流	102
一、缓慢延迟整流电流	102
二、KCNQ1 及其复合体的分子突变所导致的通道病	107
三、快速延迟整流电流	110
四、HERG 复合体及其突变导致的通道病	111
五、超速延迟整流电流	118
六、 $K_v1.5$ 复合体与心律失常	119
第五章 钾通道(中)瞬时外向电流和双孔通道电流	124
第一节 瞬时外向电流 I_{To}	124
一、 $I_{To,f}$ 的特性	124
二、 $K_v4.3$ 复合体与心律失常	125
三、 $I_{To,s}$ 的电生理学特性	128

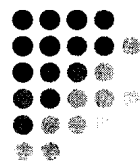
6 心肌细胞离子通道和通道病研究进展

第二节 双孔钾通道家族	132
一、心肌细胞的 $K_{2p2.1}$ 通道电流	133
二、心肌细胞的 $K_{2p3.1}$ 通道电流	137
第六章 钾通道(下)心肌细胞的内向整流家族和钙敏感性钾通道	144
第一节 K_{ir} 通道	144
一、内向整流钾通道($K_{ir2.1/2.2}$ 及 2.3 通道,离子流为 I_{K1})	144
二、 $K_{ir2.1}$ 的复合体	148
三、 $K_{ir2.1}$ 的突变导致的通道病	151
四、 $K_{ir2.3}$	151
第二节 乙酰胆碱依赖性钾通道 I_{KACH} ($K_{ir3.1}/K_{ir3.4}$ 离子通道)	158
一、 I_{KACH} 在心房纤颤(AF)时的重构	160
二、结构性 I_{KACH} 的阻断剂	160
第三节 ATP-敏感性钾通道 I_{KATP} ($K_{ir6.2}$ 通道)	162
第四节 钙激活的钾通道	167
一、SK 复合体	167
二、SK2 在心房肌电活动中的作用	169
第七章 超极化激活的阳离子通道	173
第一节 超极化激活的阳离子通道或超极化激活的环-核苷酸-门控阳离子通道的分子结构	174
第二节 I_f 的电生理学特性	174
一、 I_f 的全细胞电流	175
二、 I_f 活动的神经递质调制	176
三、 I_f 的阻断剂	177
四、 I_f 的单通道电流特性	178
第三节 窦房结 I_f 通道的分子构成	180
一、 I_f 通道是异源四聚体	180
二、S3 和 S4 连接(细胞外链)对 I_f 的重要性	182
三、HCN4 的实验性敲除	182
第四节 HCN 的复合体	185
一、KCNE	185
二、小窝蛋白-3	188
第五节 HCN 变异导致的通道病	188
第八章 TRP 离子通道	194
第一节 TRP 通道的分子结构和离子流	196
第二节 在心肌细胞上最初发现的非选择性阳离子电流	197
一、背景电流	197
二、牵张激活的非选择性阳离子通道	198

三、细胞内外无钙(二价离子)激活的非选择性阳离子通道	200
四、细胞内 Ca^{2+} -激活的非选择性阳离子通道	203
五、胰岛素激活的非特异性阳离子通道	204
第三节 当前关于 TRP 通道在心肌细胞上的研究	206
一、心肌细胞上的 TRPC 通道	206
二、TRPM4 在心肌细胞上的作用	209
第九章 心肌细胞的氯通道	215
第一节 ClC 家族氯通道及其在心肌细胞上的电活动	216
一、ClC-3 通道电流	219
二、ClC-2 通道内向整流氯离子流	221
第二节 CFTR 氯通道电流	222
第三节 Ca-依赖性氯通道和离子流 $I_{\text{Cl-Ca}}$	224
第四节 氯离子流的阻断剂	231
第十章 钠钙交换体	234
第一节 钠钙交换体的分子结构	234
第二节 钠钙交换电流的电生理学特性	236
第三节 钠钙交换电流在心肌细胞动作电位中的意义	242
第四节 Ankyrin B 的作用及 LQT-4 型	244
第五节 NCX1 的复合体与相关细胞内蛋白	245
第十一章 钠钾泵	251
第一节 钠钾泵和泵电流	251
一、钠钾泵的分子结构	251
二、泵电流的电生理学特性	253
第二节 心肌细胞钠钾泵复合体的结构与功能	255
一、PLM 对钠钾泵的作用	256
二、钠钾泵与钙微区	258
三、内源性钠钾泵抑制物	259
第三节 病理情况下钠钾泵的改变	262
一、心力衰竭时 Na-K-ATPase 的改变	262
二、心肌缺血时 Na-K-ATPase 的改变	265
第十二章 肌质网与钙掌控	268
第一节 心肌细胞的横管	268
第二节 肌质网的钙释放通道 RyR 及其复合体	270
一、RyR ₂ 的分子结构	271
二、RyR ₂ 复合体	275
第三节 肌质网的钙泵及其复合体	276

8 ● 心肌细胞离子通道和通道病研究进展

第四节 心肌细胞钙掌控异常时的通道病	278
一、RyR ₂ 突变导致的 CPVT	279
二、CASQ2 突变导致的 CPVT	279
第五节 病理情况下钙掌控的改变	283
一、心力衰竭时钙掌控的变化	283
二、心力衰竭时肌质网的 RyR ₂ Ca ²⁺ 泄漏	285
三、心力衰竭时钙泵活动的下降	285
第十三章 心脏各部分心肌细胞的离子通道分布	289
第一节 窦房结细胞	289
一、窦房结细胞的离子通道分布	290
二、窦房结细胞起搏活动的双(耦联)时钟机制	293
三、窦房结细胞的通道病	295
第二节 心房肌细胞	297
一、单通道基因突变导致的遗传学心房纤颤	298
二、心房纤颤时的离子通道重构	299
第三节 普肯耶纤维细胞	303
一、Pf cell 上的离子通道	304
二、Pf cell 内的 Ca ²⁺ 掌控	307



心肌细胞的电学活动是体心脏心电图的发生基础,也是心律失常的发生基础,因此它受到广泛的重视。自从心电图的问世,100年来对心律失常的认识,不断深入。从1949年细胞电生理学的出现,60年来,历经对动作电位,离子流以及离子通道研究的不断深入,特别是在后基因组时期,离子通道病的发现,对心律失常的认识有了重大进展。下面简单介绍一下研究历史,以便有个全面的了解。

第一节 心肌细胞离子流和离子通道研究的发展历史

在离子通道的研究历史中,由于它的结构属于分子水平,它就不能像以往的研究那样,先对其形态结构有所了解,然后进行功能研究。对它的研究,只能是对功能的研究在前,以推测其可能的结构。因此,对通道存在的设想,首先只能是个假说。然后,在其他学科,例如细胞生物学和分子生物学等等,发展到一定水平以后才能得到解决。关于这部分的发展历史的重要文献可参考有关书籍^[1,2]。

一、功能研究时期

(一) 动作电位的研究

心肌细胞电生理学的真正开始时期是1949/1950年,即距今60年前,有两个因素促成了这一学科领域的开始。第一个因素是1948年凌宁和Gerard在芝加哥大学创造出拉制尖端直径小于0.5微米的玻璃微电极。由于这种尖端极细的微电极插入细胞内时,不会损伤细胞膜,因而可以记录到准确的膜电位。当时他们用这种微电极,记录了骨骼肌细胞的静息电位。这就为进行各种细胞内电位记录提供了条件。第二个因素是英国剑桥大学的Hodgkin和Huxley以他们对枪乌贼巨大神经轴突的研究,而闻名于世。后来他们由于创造了电压钳制技术,而得了诺贝尔生理学奖。Hodgkin得知凌宁的工作,亲自到芝加哥访问了凌宁,并将拉制微电极的技术带回英国。

1949年同时有两个科研组开始了心肌细胞内动作电位的记录。Weidmann和Corbeouf在英国Hodgkin实验室用微电极方法观察了各种细胞的电活动,最后他们集中对狗心脏普肯耶纤维动作电位进行研究。与此同时,凌宁的学生Woodbury在限制活动的蛙心脏上,记录了心肌细胞的静息电位和动作电位。自此,心肌细胞电生理学的研究就正式开始了。

20世纪50年代是心肌细胞电生理学研究的开创和发展时期。Woodbury的学生遍布美

国各地。同时 Hoffman 在美国纽约州立大学独自建立了实验室。后来成了美国心肌电生理学研究中心的一个中心。在美国, Hoffman 的学生成为后来美洲有名的心肌细胞电生理学实验室的组织者。

在英国,除了 Weidmann 在 Hodgkin 实验室开创了心肌细胞电生理学的研究外,后来又有两个重要实验室。一个是由 Vaughan-Williams 在牛津大学建立的,另一个是由 Hutter 在 Glasgow 建立的。

在法国, Coraboeuf 建立的实验室成了法国心肌细胞电生理学的研究中心,他本人曾在英国和瑞士先后两次与 Weidmann 学习共事。

在德国(当时联邦德国) Trautwein 创立了自己的心肌电生理学实验室,后来该实验室发展成欧洲最有影响的研究室。

入泽(Irisawa)是日本心肌电生理学的奠基人。Woodbury 在 50 年代作为原子能委员会的成员到日本工作,将心肌电生理学的研究技术教给了入泽。后来日本的心肌电生理学家大多是入泽的门徒。另外, Matuda 于 1953 年到纽约,在 Hoffman 实验室工作以后,也将实验技术带回日本。

总之,20 世纪 50 年代是心肌电生理学研究的创立与开展时期,其方法是基于用标准微电极记录细胞内动作电位。对心肌细胞动作电位的研究,很快就扩展到世界很多国家。此时期的主要成果是详细地研究了动作电位的特性,如区别快反应动作电位与慢反应动作电位,节律细胞与工作细胞,动作电位的有效不应期以及全或无的复极,弄清了心脏各部位的细胞动作电位的特点,并计算出它们的传导速度,以及各种因素对动作电位的影响等等。其中更重要的是用离子学说解释动作电位的发生机制,特别是在心肌细胞的 K^+ , Na^+ 电导的变化等方面进行了大量工作。可以说对心肌细胞动作电位的研究已经相当全面。

就在 20 世纪 50 年代初,英国 Hodgkin 和 Huxley 建立了电压钳制技术,并在巨大神经轴突上测得了离子流。他们的工作对动作电位发生的离子机制提出了令人信服的解释。他们提出了离子通道的概念,尽管当时无法证明细胞膜上离子通道的存在,但是,它是一种唯一合理的设想。

(二) 离子流的研究

心肌细胞的动作电位,虽然与神经的动作电位有些差别,但其离子流机制在总的方面应当是一致的。因此,在心肌细胞上用相似的方法来测定离子流就是必然的趋势。然而由于技术上的困难,在相当一段时期内难以实现。Trautwein(1964 年)第一次用双电极电压钳制技术在狗普肯耶纤维上记录出离子流。以后,欧洲四个著名实验室(德国 Trautwein,英国 Noble,比利时 Isenberg 和法国 Coraboeuf)迅速地开展了离子流的研究工作。可以说从 60 年代中期到 80 年代,有关心肌细胞离子流的研究工作集中在欧洲进行。

在此期间,发现并阐明了心肌细胞各主要离子流(如 I_{Na} , I_{Si} , I_{K1} , I_K , I_{To} , I_{Ti} , I_{Na-Ca} , I_{pump} 等)的基本特性,为心肌细胞电生理学奠定了在离子流水平上的框架。值得提出的是以 I_{Ca} 为主要电流的 I_{Si} 的发现,这是在神经纤维上所不具备,而在此以前不为人知的离子流。由于该离子流是形成动作电位平台期的主要内向电流,对于维持心肌细胞的长平台 and 不应期起关键作用,同时由于 Ca^{2+} 的内流而使细胞内 Ca^{2+} 浓度增高,从而导致细胞的一系列变化,这就带动了对钙离子流及其阻断剂研究的热潮,也有力地促进了对细胞内 Ca^{2+} 浓度测定的研究。这一时期可以称为钙离子流热潮时期。作为抗心律失常药的钙离子流阻断剂,在此时期大量出现,而对细胞内 Ca^{2+} 的重要作用的认识也是从此开始,并在后来成为一个重要的研究领

域。与细胞内 Ca^{2+} 浓度增高有关的钠钙交换电流及作为洋地黄中毒机制(迟后去极化)的细胞内 Ca-依赖性 I_{T_1} 也得到了深入地研究,这是用心肌细胞电生理学方法研究心律失常发生机制的开端。

离子流研究的进一步发展,提出了如何揭露单个离子通道的活动的问题。德国生理学家 Neher 和 Sakmann(1976 年)首次报道了在单个蛙骨骼肌纤维上,用他们独创的膜片钳制技术,记录到单通道电流。后来,经过他们对该技术的改进(Hamill 等 1981 年),使该技术可用于各种细胞的离子流研究。他们的成就获得了 1991 年生理学诺贝尔奖,这是在离子流与离子通道活动研究中所获得的第二个诺贝尔奖,也可以从中看到这方面研究的重要性。

80 年代是心肌细胞电生理学研究的深入时期。单个心肌细胞分离的成功,以及这种技术的推广,为在单个心肌细胞上进行研究提供了条件。膜片钳制技术与双电极电压钳制技术的不同处,就在于前者要在单个细胞上进行,而后者是在多细胞标本上进行的。在单个细胞上的研究,排除了在多细胞标本中由于细胞间液在电压钳制过程中离子浓度改变而出现的人工伪差,从而纠正了过去的错误,例如 I_{K_2} 。

心肌细胞的单通道电流的研究工作,是从 1981 年开始的,使心肌细胞离子流和离子通道的研究进入一个新阶段。在完整细胞的一小片膜上,或将细胞上的一小片细胞膜吸下来,进行膜片钳制,以观察单个离子通道开放和关闭的规律,这就大为加深了对离子流和离子通道活动的理解,修正了早期对离子流闸门(激活与失活)活动的认识,证实了一些以往只能从理论上进行的推测。更为重要的是,在应用这种技术后,不断地发现了一些新的离子流和离子通道,这是多细胞标本上不可能做到的。第一个报道单通道离子流的工作是在 1981 年,在培养的心肌细胞上,记录了由 Ca-激活的内向离子流 I_{T_1} 。

在膜片钳制技术的广泛应用下,对心肌细胞离子通道的研究得到了迅速发展。在 80 年代到 90 年代后期,在心肌细胞膜上已发现的离子流及载体电流有以下各种: I_{Na} , $I_{\text{Ca}}(\text{T}, \text{L})$, I_{K_1} , $I_{\text{K}}(\text{r}, \text{s}, \text{ur})$, I_{To} , $I_{\text{K}}(\text{Ach})$, $I_{\text{K}}(\text{ATP})$, I_{KP} , $I_{\text{K}}(\text{Na})$, $I_{\text{K}}(\text{Ca})$, I_{F} , I_{Cl} , $I_{\text{Na-Ca}}$, I_{pump} 和 I_{J} 等。

90 年代可以说是心肌电生理学的钾离子流的热潮时期。由于发现了诸多过去不知道的各种钾离子流,而且,钾通道的激动剂和阻断剂有促进心律失常的发生,或抗心律失常作用,这就成为阐明某种心律失常发生的机制或寻找某种抗心律失常药的重要途径。

二、分子结构研究时期

由于分子生物学研究的进展,在 1984 年第一个离子通道钠通道的分子结构被确定下来。在 1987 年钾通道(Shaker)在果蝇上克隆出来,接着在 1988 年,于骨骼肌上纯化并克隆出 L-型钙通道。在以后的年代,各种离子通道的家族(系统树)陆续完成,并不断加入新成员,使各家族内的关系日益完善。

随着离子通道结构的明晰,有些离子通道的进化关系也就明确起来。例如,钾通道是个最古老的离子通道,进化上出现最早,结构也最简单。而钙通道就出现稍晚,在结构上比钾通道复杂:是将四个单独的钾通道亚单位连在一起,成为一个亚单位。钠通道出现更晚一些,结构上与钙通道很相似^[3]。

对各种主要离子通道或载体的结构既已基本阐明,研究各分子结构中执行各种功能的氨基酸残基或由几个氨基酸残基构成的基序(motif)就是必然的课题。这个时期的特点是将通道的分子结构研究和膜片钳制技术的功能研究结合起来,不断阐明执行各种功能的结构部位。例如,在结构相对简单的钾通道上,就确定该通道上的与主要功能有关的结构部位和

基序。例如,对电压敏感的部位的确。电压敏感器,是对膜电位变化时发生改变的结构,它位于第四个跨膜螺旋。而对离子的滤器和孔道口,则位于第五和第六跨膜螺旋之间的连接,称之为P环。这些也都适用于钠通道和钙通道。

人们更可以改变离子通道的有关结构,甚至剔除某一有关通道基因来观察其反应。这样就发现了与主要功能相关的结构部位,以及对这个通道功能重要性的理解。例如,去掉钠通道第三和第四结构域之间的连接,钠通道就不能失活,说明主管失活的部位就在这个区域等等。这种研究,大大丰富了人们对通道各个部位与有关功能的了解,并不断找出以往所不了解的功能部位和有关基序,从而进一步深化对其功能的理解。例如过去被人们忽视的钠通道和钙通道的长链C端,近年来就发现了一些极为重要的功能,而成为研究的热点。另一个重要发现是除了形成孔道的上述结构外,还发现了附加的功能单位。因此,除了主要的结构,称之为 α 亚单位外,还有 β 亚单位,甚至还有 γ 和 δ 亚单位。这些亚单位都是从分子结

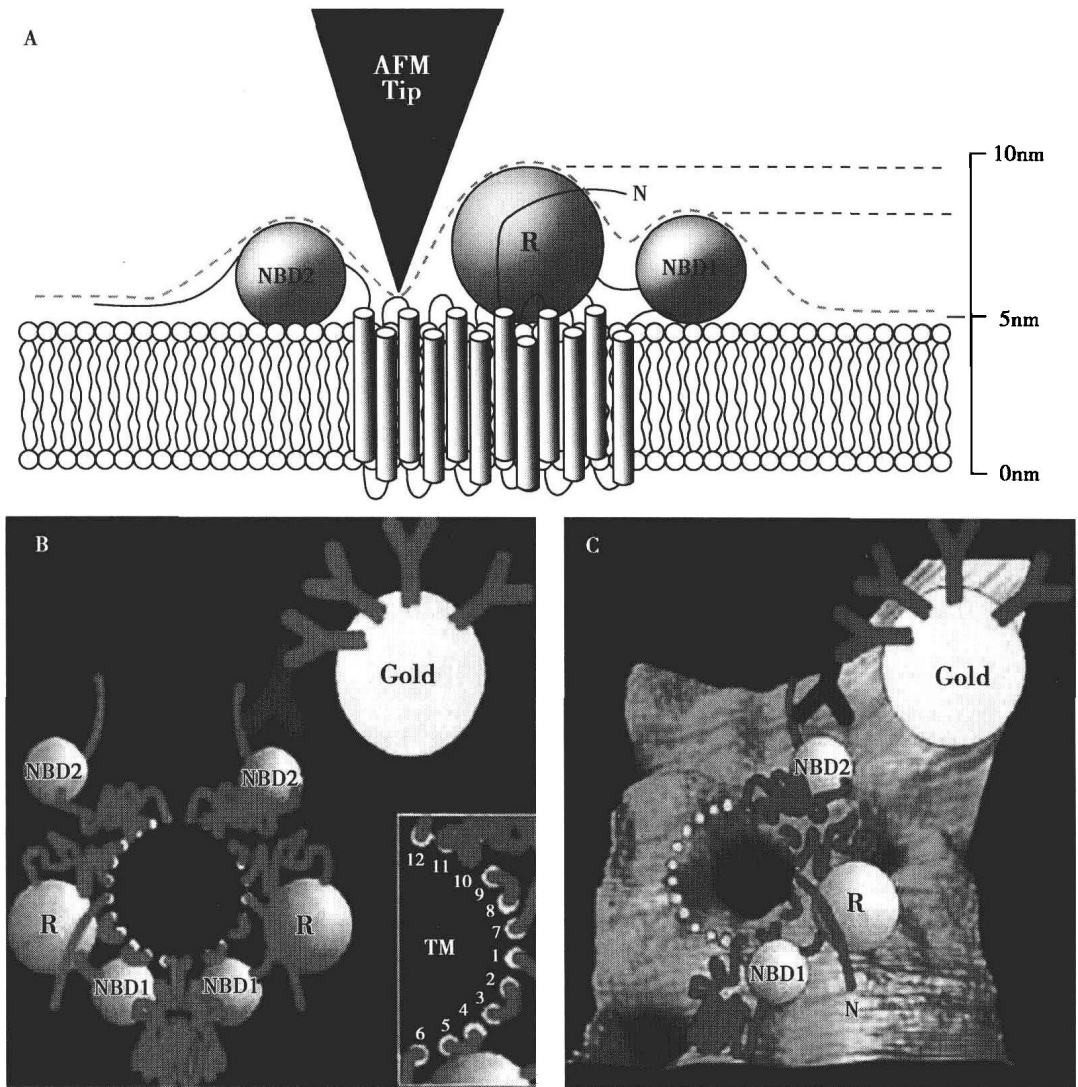


图 1-1 在原子力显微镜(AFM)下观察到的 CFTR(一种氯离子通道)在细胞膜上的内开口
A:为 AFM 扫描尖端(AFM Tip)在细胞膜上对 CFTR 通道的扫描,AFM Tip 下示 CFTR 的分子结构;B:CFTR 在细胞膜上的排列示意图,图示通道由二聚体构成,右下侧小图示跨膜螺旋的序号;C:扫描得到的镜像

构的研究中发现的,因此,它们的功能研究,就与前述相反,是从结构到功能的研究,只有把它们结构研究清楚以后,才能进行。也可以说,这是在以前的任何时期,都不可能做的工作。不少的离子通道的 β 亚单位起着重要的辅助作用,没有它们通道的功能就不正常,当它们结构异常(突变)时,就可能产生严重的心律失常。

由于新技术的进展,离子通道的开口可以在特殊的显微镜下显示出来,这就更为形象地展示离子通道开口在细胞膜上的外观(图 1-1,彩插见后)^[3]。

人们在对生理条件下各种离子通道正常活动理解的基础上,自然就会研究在各种病理情况下(如心肌肥厚,心房纤颤等),心肌细胞膜上的各种离子通道活动所起的作用。结果发现,在病理条件下,某些通道不仅功能发生改变,而且在膜上的表达也发生变化,这就是分子结构的重组(Remodeling)。这又是一个新的研究领域。

三、后基因组时期

由于人类基因组研究的进展,各种离子通道的编码基因和它们在染色体上的位置,就必然是研究的课题,而寻找由基因突变引起的通道分子结构异常所导致心律失常的发生机制,就成为解决临床上遗传性心脏猝死的关键。

1995年 Curran 等人首次阐明导致长 QT 综合征发生的离子通道编码基因突变。之后在遗传性病人家族中查找有关基因突变的工作,就大量出现,成为临床与基础研究结合的典型趋势。心肌细胞离子通道分子结构的改变,导致该通道离子流的变化,从而出现功能异常,就有了心肌细胞通道病(cardiac channelopathy)名称的出现^[4],这就对以往机制不明的遗传性严重心律失常的病因有了清楚的认识。

心肌细胞通道病的研究,是当前临床上研究心脏猝死的热门领域,各国都在积极进行,我国也不例外。例如,刘文玲等报道了中国人遗传性长 QT 综合征 *KCNQ1* 和 *KCNH2* 的突变^[5]。

在通道病的研究中,也发现了过去所不了解的通道结构中的某些氨基酸残基或基序的功能,这就进一步为通道结构和功能的研究提供了线索。事实上,有大量的研究就是这样进行的,并取得重要结果。到了 2000 年以后,有关的临床和基础性研究大量出现,也就涌现了更多的综述^[6,7]。

第二节 通道病

1991 年第一次提出能导致致死性心律失常的 QT 间期延长综合征(LQT)是一种遗传病,并与基因突变联系起来^[4]。此后陆续发现了 LQT1, LQT2 和 LQT3 在染色体上的异常位置。真正报道由于基因突变导致 LQT 发生的是在 1995 年^[5], Curran 等首先报道了 *HERG* 基因突变导致 LQT2 的发生机制,从此心肌细胞的离子通道病的研究就正式开始了。

到目前为止,就 LQT 而言,已经发现 12 种类型(表 1-1)^[6]。

当然,这只是心肌细胞通道病的一种,在这里只不过是举个例子进行说明。通道病的发现与研究,其重要性不仅限于心肌细胞,因为离子通道广泛分布于各种细胞,特别是神经细胞,就更具有重要意义。在过去,许多原因不明的疾病,往往冠以“原发性”而难以寻找治疗对策。通道病,作为基因突变而导致的遗传性疾病,揭开了这个领域的答案。说它在这个领域有划时代的意义,也不为过。

表 1-1 遗传性 LQT 的类型

基因型	染色体	涉及基因	离子流
LQT1	11	<i>KCNQ1</i>	I_{Ks} 下降
LQT2	7	<i>KCNH2</i>	I_{Kr} 下降
LQT3	3	<i>SCN5A</i>	I_{NaL} 升高
LQT4	4	<i>Ankyrin-B</i>	I_{Na} 升高
LQT5	21	<i>KCNE1</i>	I_{Ks} 下降
LQT6	21	<i>KCNE2</i>	I_{Kr} 下降
LQT7	17	<i>KCNJ2</i>	I_{K1} 下降
LQT8	6	<i>CACNA1C</i>	I_{Ca} 升高
LQT9	3	<i>Cav3 (Caveolin3)</i>	I_{Na} 升高
LQT10	11	<i>SCN4B</i>	I_{NaL} 升高
LQT11	7	<i>AKAP9</i>	I_{Ks} 下降
LQT12	20	<i>SNT1</i>	I_{Na} 升高

对于没有器质性心脏病的健康青年人,没有明显的原因,突然在睡眠中,或运动场以及其他激动的情况下,发作而死亡,这的确是难以解释的事件。然而,若有一定比例的人,发生同样事件而无法解释,就势必引起恐惧。例如在东南亚,特别是菲律宾,人们对中青年男子在夜间突然死亡,就归结为寡妇女魂勾引男人性命的结果。于是就有男人穿女衣睡觉的办法来避祸,这当然无济于事。直到 Brugada 综合症的发现,死亡原因才大白于世。

通道病的发现与研究,对临床的诊断和治疗有直接的意义,使得对离子通道的理论研究开辟了新的一页,为研究离子通道的分子结构与功能的关系提供了直接的证据和研究线索。在心肌细胞离子流的研究历史上,往往都是揭露功能在先,然后逐渐探索其有关的结构。即使是离子通道本身,最初也是从假设开始的。离子通道的功能,也都是从离子流的特性开始研究,首先推测出其激活和失活过程,然后再推测相应的通道活动。第一个离子通道,钠通道,它的分子结构被分离出来以后,才最后验证了以前假设的功能。

由于离子通道的分子结构都很复杂,一开始不可能无目的地逐一改变其氨基酸残基,以观察其后果,只能有限地观察与激活和失活有直接相关的通道结构,这样持续了 20 多年的时间。而临床上通道病的大量发现,就提供了与离子通道活动有直接影响的氨基酸残基及其编码基因,这为发现这些残基在该通道中的作用提出了直接的证据。这不仅对与其主要功能的激活和失活有密切关系的残基有进一步的了解,而且对与离子通道合成,运输以及在细胞膜上的安装有作用的氨基酸残基,都提供了证据,这就为离子通道从合成到降解的这个“生物学周期”指出了轮廓。这个意义是非常巨大的。

第三节 离子通道的生成与降解

离子通道在细胞膜上并非一成不变,而是不断生成和降解。最早全面阐述由离子通道病揭示通道的生物合成到降解的过程,是在 1999 年的氯通道(CFTR)遗传性疾病的研究中^[7]。

整个心肌细胞本身是很难新生的,但是它的有些部分是可以更换的。研究发现,一个离子通道存在于细胞膜上的时间并不很长,从数小时到几十小时,它们的更换很快。它们是蛋白

质,是由细胞核内生成,经内质网,高基氏体,通过不同的方式运输到细胞膜上。在这个过程中,通道的分子结构中的某些氨基酸残基,起着决定性作用。如果它们发生突变,那么这个新生成的通道蛋白就不能完成整个过程,而停留在细胞内的某个环节上,不能达到并安装到细胞膜上。这样,该通道在细胞膜上的数量就会减少,而表现其功能的下降。另外,成熟的通道,经一定时间后,通过不同的方式,从细胞膜上脱落到细胞内,这叫做内部化(internalization),进行降解(图 1-2)^[8]。从整个细胞来看,各种通道都保持一定数量上的平衡,从而在功能上保持稳定。

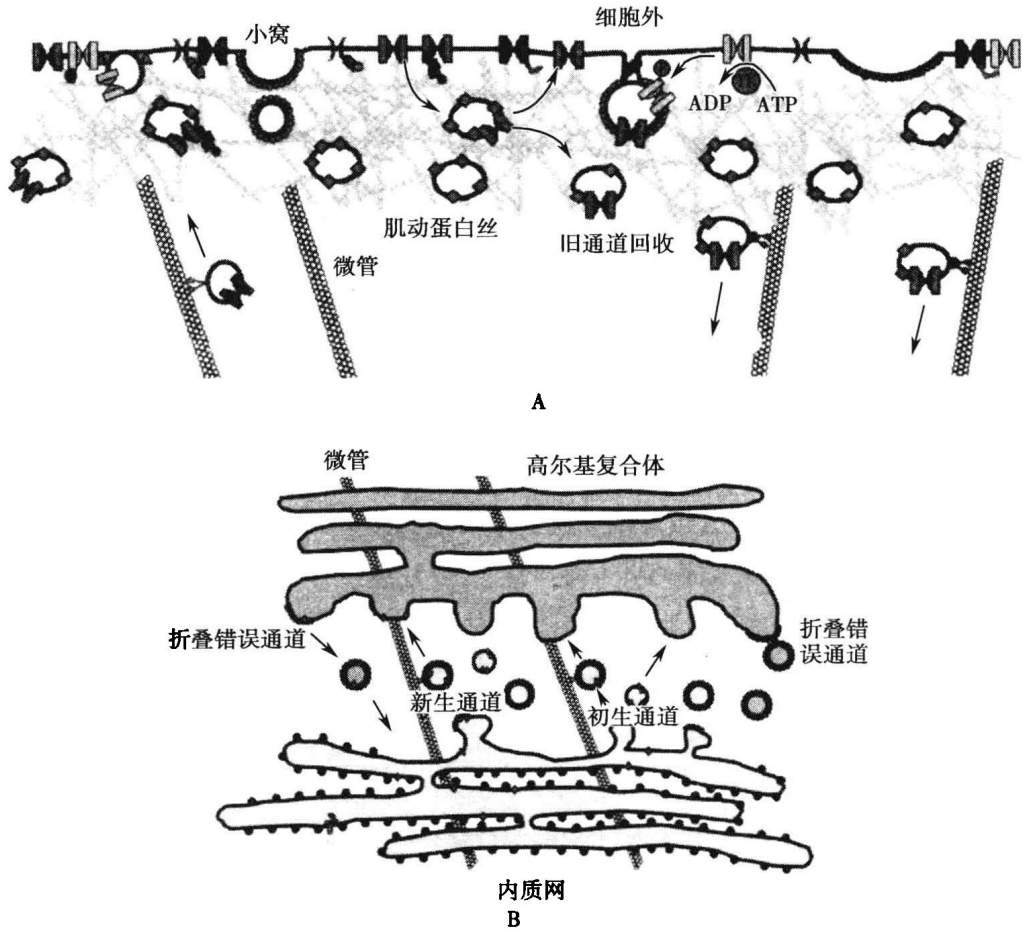


图 1-2 一些钾离子通道生成后的运输安装与降解

从图 1-2 中下图开始, A: 示钾通道在合成后初生通道从内质网(ER)运输到高基氏体,在高基氏体折叠错误的通道被送回; B: 示成熟通道从高基氏体运输到细胞膜,旧通道从细胞膜上内部化。所有的运输过程,经过微管

第四节 离子通道的重构

由于离子通道处于不断变化的周期之中,所以当心脏处于异常状况时,这个周期就可以改变,这就是离子通道的重构。这种重构主要表现为某些离子通道在细胞膜上表达的增多或减少,而单个通道本身的结构与特性并无改变。

心肌细胞离子通道在病理情况下重构的提出,开始于 1995 年^[9,10]。最初发现心房纤颤时的心肌细胞动作电位不应期变短,这就导致房颤的发生和进一步延续,也就是“房颤促房

颤”现象。因此,有人就提出了电学重构(electrical remodeling)的概念。然而,这在当时毕竟只是个概念,其机制如何,尚不清楚。其后,大量的研究工作证明,在心房纤颤条件下内向离子流(I_{Na} 和 I_{Ca})下降,而外向离子流(I_{K1} 和 I_{KAch})增强。在离子流改变同时,相应的离子通道在细胞膜上的表达,或 mRNA 水平,也有同样的变化^[11](图 1-3)。

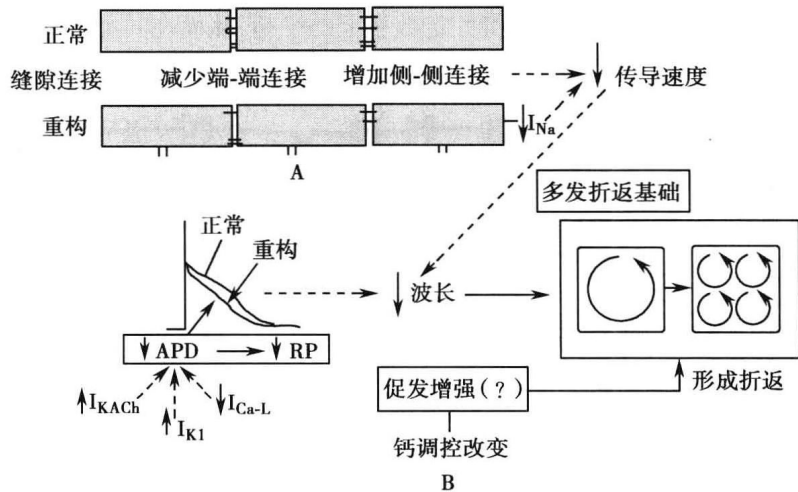


图 1-3 心房纤颤时离子通道重构

图中箭头向上表示功能加强,箭头向下表示功能降低

离子通道在病理情况下的重构,得到了广泛的重视和研究,除心房纤颤外,在心肌缺血、心力衰竭等方面都出现了大量报道^[11]。

疾病情况下的离子通道重构的阐明,对治疗和药物研究有重要意义。研究表明若能阻止某些通道的重构,将有助于阻止该疾病的发展,并可有效地缓解该疾病。

第五节 离子通道复合体

在 LQT 这样通道病的研究中发现,LQT4,LQT9,LQT11 和 LQT12 型都不是离子通道本身分子结构发生突变,而是一些和它们结合的蛋白分子结构产生突变,从而导致该通道活动异常,而出现 LQT。这就使人们认识到,不仅离子通道本身正常,而且与它们结合的其他蛋白的结构正常,都是非常重要的。因而,对离子通道复合体的研究,就提到日程上来了。

其实,细胞的信号转导以及细胞内蛋白与蛋白相互作用(protein-protein interaction)的研究,早就是很热门的领域,而大分子复合体的概念也是在这个基础上提出来的^[12]。只是它们还没有与通道病直接联系起来。离子通道复合体的异常导致的通道病的发现,就将离子通道与信号转导和蛋白与蛋白相互作用联系起来。这就对心律失常的发生,有了更广泛更全面的视野,对离子通道的活动也有了更全面深入的认识。

大分子信号复合体,发现较早,工作也很深入,例如 ryanodin 受体大分子信号复合体的发现(图 1-4)^[13]。大分子信号复合体的一部分也是构成离子通道复合体的成分,只是后者涉及整个心肌细胞电学活动以及与心脏的节律等密切联系的临床实践问题,它的复合体不只是涉及信号调节,例如也包括与细胞骨架相结合的锚蛋白 ankyrin,与离子通道运输和降解有关的小窝蛋白 caveolin 等。

近年来发现,上述构成复合体的蛋白发生突变时,也能导致心律失常,因此通道复合体