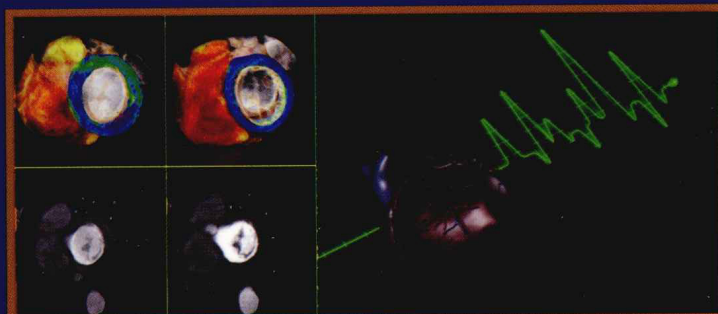


心肌细胞离子通道复合体 与心律失常



刘泰燧 编著



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

心肌细胞离子通道复合体 与心律失常

刘泰樵 编著

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

心肌细胞离子通道复合体与心律失常/刘泰槌编著.
—北京:人民卫生出版社,2010.12
ISBN 978-7-117-13612-9

I. ①心… II. ①刘… III. ①心肌-细胞-离子
通道-研究②心律失常-研究 IV. ①R541.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 202797 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!

心肌细胞离子通道复合体与心律失常

编 著: 刘泰槌

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

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: 潮河印业有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 850×1168 1/32 印张: 6.5 插页: 1

字 数: 168 千字

版 次: 2010 年 12 月第 1 版 2010 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-13612-9/R·13613

定 价: 28.00 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)

前言

心肌细胞离子通道的研究,如果从 1983 年膜片钳制用于心肌开始,就将近 30 年。可就研究的进展来说,以发表文章数量为例,几乎是呈几何级数在增长。如果一开始以 10 年为界限,划分进展年限的话,那么现在 5 年以前的报告,就显得有些“过时”了。这样的形容大概不算为过。所以,往往 2~3 年前写的东西,至少在对研究生的教学方面已经非常不够用了。

20 世纪 90 年代后半期,由于离子通道基因突变导致的通道病,极大地推动了离子通道分子结构和功能关系的研究,从离子通道的合成、运输直到在膜上的安装,都与分子结构中一定的氨基酸残基有关。这当然和基因组的研究进展有密切关系,从而对离子通道的理解深入到了对它的生物学周期的认识。因此,也就对在疾病情况下的离子通道重构,有了深入的了解。因为离子通道在细胞膜上工作时间并不很长,从几小时到几十小时,就要更换。它们在疾病情况下的改变并不需要很长时间。

另一个重要的推动力,是来自细胞内信号转导的研究,包括细胞内蛋白-蛋白相互作用研究的进展。离子通道是以大分子复合体的形式存在,而发挥其正常作用。同时发现,在某些通道病中,离子通道本身并无异常,只是与其结合的其他蛋白发生了突变,导致严重心律失常。这就进一步推动了对离子通道大分子复合体的研究。

以上这些进展,都是近几年间的事情。虽然在各个离子通道之间的进展很不平衡,但是这一领域已经成形,必须给予重视。这就是写本书的目的,也是抛砖引玉之举。

本书适用于在这一领域有一定经验的研究人员、研究生和中级以上的临床医生。至于有关离子通道的基本知识,本书不予重复,可以参读有关书籍。

由于研究进展很快,材料很多,在取舍之间,难免有不当之处。恳请读者指正,则不胜感激。

作者 于燕园
2010 年夏

目 录

第一章 绪论	1
第一节 通道病.....	1
第二节 离子通道周期.....	3
第三节 离子通道的重构.....	5
第四节 离子通道复合体.....	6
第二章 离子通道结合蛋白	9
第一节 蛋白激酶 A 锚合蛋白	9
第二节 小窝和小窝蛋白	15
第三节 锚蛋白	19
第三章 钠通道及其复合体	25
第一节 钠通道的分子结构和功能	26
第二节 钠通道的合成运输与降解	28
第三节 作为复合体的钠通道	33
第四节 钠通道的通道病	42
第五节 钠通道在疾病情况下的重构	56
第四章 钠钾泵与细胞内$[Na^+]$稳态	68
第一节 心肌细胞钠钾泵复合体的结构与功能	69
第二节 PLM 对钠钾泵的作用	73
第三节 钠钾泵与钙微区	75
第四节 内源性钠钾泵抑制	76

第五节 病理情况下钠钾泵的改变	79
第五章 钙通道及其复合体	88
第一节 钙通道的分子结构和功能	90
第二节 作为复合体的钙通道	93
第三节 心肌细胞钙通道病	100
第四节 疾病情况下的钙通道的重构	102
第六章 钙掌控	106
第一节 心肌细胞的横管	106
第二节 钠钙交换体和钠钙交换电流	109
第三节 肌质网的钙释放通道 RyR 及其复合体	119
第四节 肌质网的钙泵及其复合体	127
第五节 心肌细胞钙掌控异常时的通道病	130
第六节 病理情况下钙掌控的改变	136
第七章 心肌细胞钾通道及其复合体	145
第一节 电压依赖性钾通道(Kv)的辅助亚单位	147
第二节 Kv1.5 复合体与心律失常	152
第三节 Kv4.3 复合体与心律失常	156
第四节 Kv7.1(KCNQ1)复合体与心律失常	160
第五节 HERG(KCNH2)复合体及其心律失常	168
第六节 Kir2.1 及其复合体	175
第七节 小电导钙激活的钾通道	181
第八章 超极化激活的阳离子通道	190
第一节 超极化激活的阳离子通道(HAC)或超极化 激活的环核苷酸-门控阳离子通道(HCN)的 分子结构及其复合体	190
第二节 HCN 变异导致的通道病	194

第一章

绪 论

心肌细胞的电学活动是在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。自从心电图问世至今,一百年来人们对心律失常的认识不断深入。自从细胞电生理学研究的出现,六十年来,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。

关于离子通道研究的发展历史,在以前出版的书中已经进行了较详细的叙述^[1,2],这里不再重复。然而,在后基因组时期的进展却发展很快。本章将对这些进展做一个概述,它也是以下各章节的重点。

第一节 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^[3]。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^[4]。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)^[5]。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。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	KCNQ1	I _{Ks} 下降
LQT2	7	KCNH2	I _{Kr} 下降
LQT3	3	SCN5A	I _{NaL} 升高
LQT4	4	Ankyrin-B	I _{Na} 升高
LQT5	21	KCNE1	I _{Ks} 下降
LQT6	21	KCNE2	I _{Kr} 下降
LQT7	17	KCNJ2	I _{K1} 下降
LQT8	6	CACNA1C	I _{Ca} 升高
LQT9	3	Cav3 (caveolin3)	I _{Na} 升高
LQT10	11	SCN4B	I _{NaL} 升高
LQT11	7	AKAP9	I _{Ks} 下降
LQT12	20	SNT1	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,或在运动场,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,就用男人穿女衣睡觉的办法来避祸。这当然无济于事。直到 Brugada 综合征的发现,真相才大白于世。

通道病的发现与研究,不仅对临床的诊断和治疗有直接的

意义,而且它对离子通道的理论研究也开辟了新的一页。它对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。当可兴奋细胞上的离子通道——钠通道的分子首次被测序以后,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。这对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了进一步的了解,而且对决定离子通道合成、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。这就对离子通道从合成到降解的整个“生物学周期”都指出了轮廓。这个意义是非常巨大的。

第二节 离子通道周期

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 1999 年在氯通道(CFTR)的遗传性疾病的研究中得到的^[6]。

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,从几小时到几十小时,更换速度很快。它们是蛋白质,是由细胞核内生成,经内质网、高尔基复合体,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 1-1)^[7]。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。

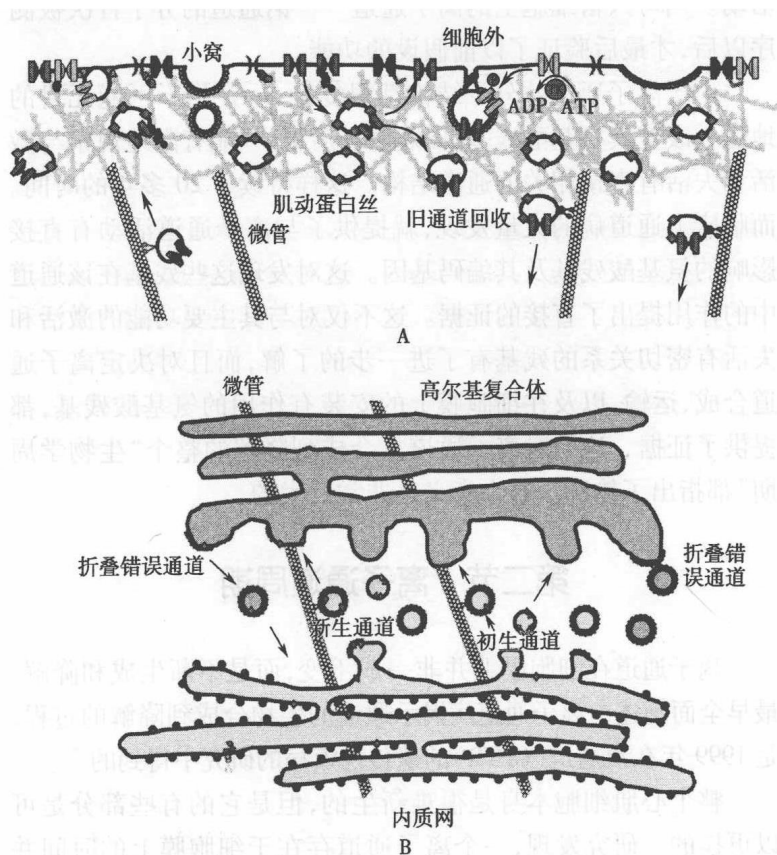


图 1-1 一些钾离子通道生成后的运输安装与降解

从 B 图开始,示钾通道在合成后初生通道从内质网(ER)运输到高尔基复合体。在高尔基复合体折叠错误的通道被送回。A 图示成熟通道从高尔基复合体运输到细胞膜。旧通道从细胞膜上内部化所有的运输过程,经过微管

第三节 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^[8,9]。最初发现心房纤颤时的心肌细胞动作电位不应期变短,这就有利于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

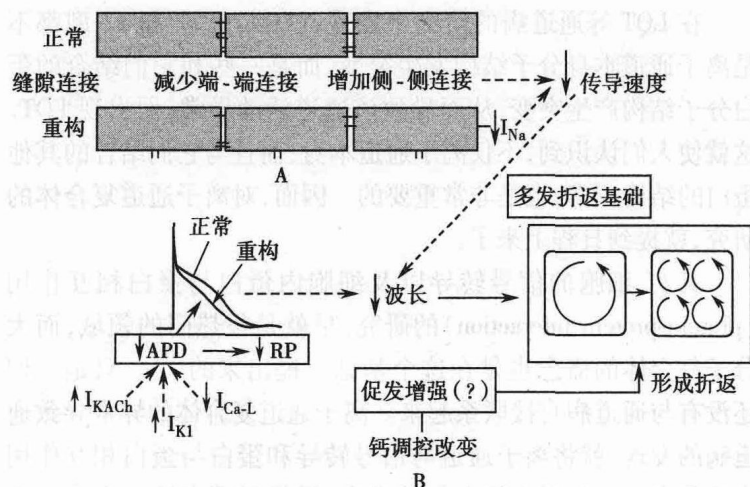


图 1-2 心房纤颤时离子通道重构

A. 细胞间隙连接的重构,正常时主要是端-端连接,重构时端-端连接的数量减少,侧-侧连接增加。同时 I_{Na} 下降导致传导速度降低;B. 动作电位和离子流的重构, I_{KACh} 和 I_{K1} 增强, I_{Ca} 减弱。这导致动作电位时程和不应期的缩短,以及促进折返环的形成

图中箭头向上表示功能加强;箭头向下表示功能降低

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_{Kl} 和 I_{KACH})增强。在离子流改变的同时,相应的离子通道在细胞膜上的表达或 mRNA 水平,也有相应的变化^[10]。(图 1-2)

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^[10]。

疾病情况下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,将有助于阻止该疾患的进展,并可有效地缓解该疾病。

第四节 离子通道复合体

在 LQT 等通道病的研究中发现,LQT4、9、11 和 12 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,而且与它们结合的其他蛋白的结构正常,也是非常重要的。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^[11]。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,提供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。

其实,大分子信号复合体,发现较早,工作也很深入,例如兰尼碱(ryanodine)受体大分子信号复合体的发现(图 1-3)^[12]。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,以及心脏的节律等密切

联系临床实践的问题,它的复合体不只是涉及信号调节,也包括例如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)等所形成的复合体。

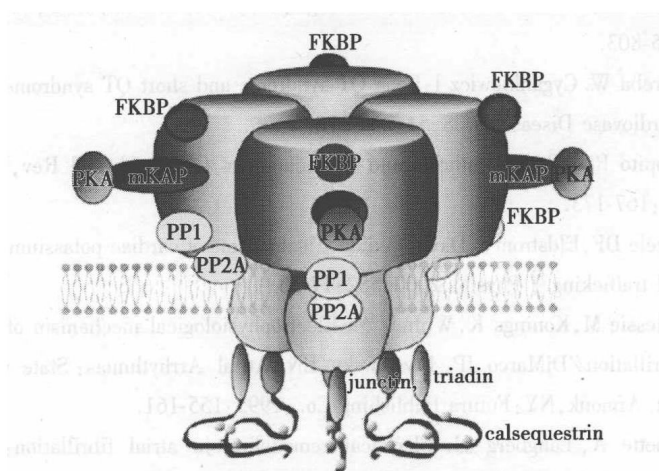


图 1-3 ryanodine 受体复合体

图中缩写分别为:FKBP:钙稳定蛋白 calstabin;PKA:蛋白激酶 A;mKAP:m 蛋白激酶锚合蛋白;PP1:蛋白磷酸酶 1;PP2A:蛋白磷酸酶 2A

由于近年来发现,上述构成复合体的蛋白发生突变时,也能导致心律失常,因此通道复合体性心律失常就成为新的为人们所关注的内容^[13]。

综合以上进展,使人们对离子通道的活动,有了更深入的认识。在这个基础上,势必对临床实践产生深远的影响。对寻找治疗对策,确定新药的靶点,都会起到重要作用。

参 考 文 献

1. 刘泰燧. 心肌细胞电生理学:离子通道,离子载体和离子流. 北京:人民卫生出版社,2005.
2. 刘泰燧. 心肌细胞离子通道和通道病. 北京:人民卫生出版社,2006.
3. Keating M, Atkinson D, Dunn C, et al. Linkage of a cardiac arrhythmia, the

- Long QT syndrome, and the Harvey *ras-1* gene. *Science*, 1991, 252: 704-706.
4. Curran ME, Splawski I, Timothy KW, et al. A molecular basis for cardiac arrhythmia; HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell*, 1995, 80 (5): 795-803.
5. Zareba W, Cygankiewicz I; Long QT syndrome and short QT syndrome. *Prog Cardiovasc Disease*, 2008, 51: 264-278.
6. Kopito Ron R. Biosynthesis and degradation of CFTR. *Physiol Rev*, 1999, 79: 167-173.
7. Steele DF, Eldstrom J, David Fedida. Mechanisms of cardiac potassium channel trafficking. *J Physiol*, 2007, 582: 17-26.
8. Allesie M, Konings K, Wijffels M. Electrophysiological mechanism of atrial fibrillation//DiMarco JP, Prystowsky EN. *Atrial Arrhythmias: State of the Art*. Armonk, NY: Futura Publishing Co., 1995: 155-161.
9. Goette A, Langberg JJ. Electrical remodeling in atrial fibrillation: Time course and mechanisms. *Circulation*, 1996, 94: 2968-2974.
10. Nattel S, Maguy A, Le Bouter S, et al. Arrhythmogenic ion-channel remodeling in the heart: heart failure, myocardial infarction, and atrial fibrillation. *Physiol Rev*, 2007, 87: 425-456.
11. Dai S, Hall DD, Hell JW. Supramolecular Assemblies and Localized Regulation of Voltage-Gated Ion Channels. *Physiol. Rev*, 2009, 89: 411-452.
12. Yano M, Yamamoto T, Ikemono N, et al. Abnormal ryanodine receptor in heart failure. *Pharmacol & Therap*, 2005, 107: 377-391.
13. Mohler PJ, Wehrens HT. Mechanism of human arrhythmia syndromes: Abnormal cardiac macromolecular interactions. *Physiol*, 2007, 22: 342-350.

第二章

离子通道结合蛋白

离子通道(和转运体)复合体是由多种细胞内的蛋白与之结合而成。不同的离子通道有不同的蛋白与之结合而完成其功能。为了叙述的方便,首先将一些与离子通道结合最多见的蛋白进行集中的介绍,是很必要的。而个别的蛋白只是和少数某些离子通道结合的,就在相应的章节具体介绍。

第一节 蛋白激酶 A 锚合蛋白

心肌细胞的许多离子通道是受 G 蛋白受体,例如 β -AR 受体,活动的调节。它们在激动后,使细胞内 ATP 在腺苷酸环化酶(AC)作用下生成 cAMP。而 cAMP 又激活蛋白激酶 A(PKA),从而实现细胞内有关蛋白质的磷酸化,来实现各种功能。(图 2-1)^[1]

AC 以两种方式存在于细胞内:跨膜方式和细胞内方式。跨膜方式的 AC 受 G 蛋白调节,而细胞内方式的 AC 不受 G 蛋白调节,只由 HCO_3^- 和 Ca^{2+} 所调节。图 2-2 示 AC 的分子结构示意图^[2]。

AC 有九个异构体,在不同的细胞上存在着不同的异构体。AC 在 G 蛋白作用下将 ATP 转化为 cAMP,而后者将无活性的(holoenzyme)蛋白激酶 A(PKA)激活。(图 2-3)^[1]

PKA 由两个亚单位构成:调节(R-)亚单位和催化(C-)亚单

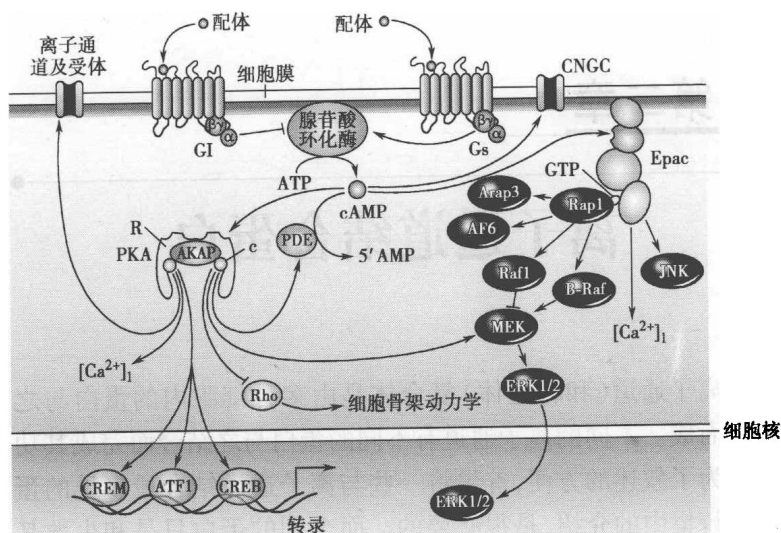


图 2-1 G 蛋白受体激活所产生的反应

G 蛋白受体的激活刺激腺苷酸环化酶 (adenylyl cyclase) 使 ATP 转化成 cAMP。cAMP 作用于 PKA、环核苷酸-门控的离子通道 CNGs 和 cAMP 激活的交换蛋白 Epac。cAMP 由磷酸二酯酶 PDE 分解为 5' AMP。PKA 又可以作用于与转录有关的 CREB (cAMP response element-binding protein), CREM (cAMP response element modulator) 和 ATF1 (activating transcription factor 1)

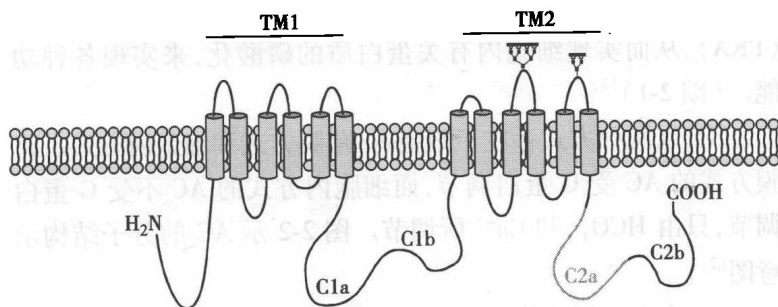


图 2-2 腺苷酸环化酶的分子结构

TM1 和 TM2 为两个跨膜螺旋组。C1 为第一个细胞内环。C2 为第二个细胞内环。C1a 和 C2a 是保守结构, 它们与 ATP 结合。C1b 和 C2b 为非保守结构