

心肌细胞钠、氯离子通道与室性心律失常的关系研究进展*

郭 欢¹, 周光春², 王竞涛¹, 易 敏¹, 王晓红³ 综述, 余丹玲^{3△}, 李海霞³, 王 忠⁴ 审校 (1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 北京市通州区中西医结合医院 101100; 3. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 4. 中国中医科学院临床基础医学研究所, 北京 100700)

【关键词】 心肌细胞离子通道; 室性心律失常; 研究进展

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2016. 05. 050 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)05-0696-03

心肌细胞内外带电离子通过离子通道进出心肌细胞产生电位差, 使心肌有自主电活动, 并兴奋心肌细胞、传导生物电活动, 引起心肌收缩来完成心脏的泵血功能^[1]。心肌细胞上存在着多种通道, 主要包括钠、钾、钙和氯离子通道。它们参与了心肌的正常代谢, 同时也是多种心脏疾病发生发展的基础^[2-4]。因此, 离子通道及与其相关的基因、分子结构、功能等为众多科研工作者的研究方向。下面仅对钠离子和氯离子通与室性心律失常的研究进展做一综述。

1 钠离子通道

心脏钠通道是由 1 个 α 亚基 (Nav 1.5)、4 个 β 亚基和几个调节蛋白组成的复合体跨膜糖蛋白^[5-6]。钠通道在心肌电活动中主要提供大量钠离子顺浓度差从细胞外快速内流, 引发动作电位 0 相除极。当电压达到峰值时钠通道迅速关闭失活, 但有约 1% 钠离子不能失活, 成为晚钠电流, 参与复极波的形成。故钠通道在维持细胞的兴奋性中具有非常重要的作用。

1.1 Nav 1.5 Nav 1.5 是心脏钠通道的功能单位, 是由 2 016 个氨基酸组成的钠通道孔, 由位于染色体 3p21~24 上的基因 SCN5A 编码。Nav 1.5 由 4 个同源结构域 DI~DIV 连接起来, 每个结构域分别含有 6 个跨膜片段 S1~S6, 而决定通道的离子选择性和传导性的就是由 4 个结构域的 S5 和 S6 片段以及两片段之间的肽链构成通道孔。富含正电荷残基的 S4 片段和连接 DIII 的 S6 和 DIV 的 S1 胞内肽环分别构成该通道的激活闸门和失活闸门^[7]。Nav 1.5 的激活和失活是紧密联系的, 是维持正常的心肌兴奋性的前提^[8]。心脏钠离子通道 SCN5A 基因的突变可以通过蛋白的表达、通道的密度分配、通透性及通道动力学等多方面影响通道功能的获得或者降低, 继而导致多种遗传性心律失常^[9], 如长 QT 综合征 (LQTS)、特发性室颤、Brugada 综合征 (BrS)、婴儿猝死综合征 (SIDS) 等^[10]。下面对其进行简要介绍。

1.1.1 SCN5A 突变与 LQTS 1995 年首次发现, 编码心脏钠通道 α 亚基的基因 SCN5A 突变是遗传性心律失常长 QT 综合征 3 型 (LQT3) 的致病基因。Wang 等^[11] 和 Jiang 等^[12] 用候选基因定位法确定 SCN5A 导致 3 型 LQTS。该基因的突变导致心肌细胞上的钠通道不能快速失活, 持续性的通道开放使心肌细胞复极速率减慢、动作电位延长, 触发早后除极从而加大了尖端扭转室性心动过速和猝死发生的概率^[13]。

1.1.2 SCN5A 突变与自发性室颤 (IVF) 张丹梅等^[14] 通过实验表明心脏钠通道基因 SCN5A 与 IVF 的发生密切相

关。错义突变的钠离子通道比正常通道从静止中恢复得更快, 而读码突变使钠离子通道失去功能导致部分电流被抑制, 两者共同引发了不应期的紊乱, 成为出现折返性心律失常的理想因素, 进而引起了早搏和室颤。

1.1.3 SCN5A 突变与 BrS BrS 是一种“离子通道缺陷病”, 与钠离子通道蛋白 α 亚单位的遗传缺陷有关。SCN5A 基因突变约占 BrS 基因突变病例的 20% (11%~28%), 为最常见致病基因^[15]。Nav 1.5 调节蛋白突变也参与 BrS 发病, 通过影响钠通道的转运和电流强度干预心肌细胞的复极和除极, 从而诱发了室性心动过速、室颤和折返性心律失常^[16-18]。

1.1.4 SCN5A 突变与 SIDS 婴儿猝死由多种原因造成, 部分患儿有长 Q-T 间期。Skinner 等^[19] 进行的 DNA 分析表明, 部分患儿的 SCN5A 基因存在错义突变, 使钠通道内流增加、失活延迟、复极和动作电位时间延长, 进而触发室性活动增加而导致致死性室颤。

目前 SCN5A 已成为 LQT、BrS、先天性病态窦房结综合征、进行性心脏传导障碍等心律失常常规测序的基因^[20]。由于 SCN5A 突变导致的 LQT3 及 BrS 等具有很高的致死性, 尽管相应的临床、遗传学、分子生物学等研究不断深入, 但是药物治疗预防室性心律失常的疗效并不乐观。突变特异性及个体化治疗, 寻找药物新靶点是今后研究的热点和方向^[16]。

1.2 心肌细胞的 β 钠通道 包括 β_1 、 β_2 、 β_3 、 β_4 , 分别由 SCN1B、SCN2B、SCN3B 和 SCN4B 编码, 但以 β_1 、 β_2 为主。 β 亚基参与细胞黏附、细胞迁移、细胞间聚集和细胞骨架相互作用过程, 辅助和调节 Nav 1.5 细胞膜表达和门控功能。SCN1B 和 SCN3B 突变, 可分别导致钠通道转运障碍和钠电流降低从而导致 BrS 的发生^[21]。SCN3B 和 SCN4B 基因和其他调节蛋白共同作用引发 SIDS^[22-24]。

另外急性心肌梗死 (AMI) 可导致梗死区心肌细胞 INa 下降^[25]、钠通道动力学发生变化, 引起心肌传导速度下降和不应性延长, 这可能是导致 AMI 后出现折返性室性心律失常的原因。

2 氯离子通道

氯离子通道主要包括囊性纤维变性跨膜电导调节体 (CFTR) 氯通道、钙激活氯通道、容积调节性氯通道及电压依赖性氯通道等^[26]。

2.1 CFTR 氯通道 CFTR 由 1 480 个氨基酸组成, 有 2 个结构域, 每个结构域由 6 个跨膜螺旋和 1 个核苷酸结合位点

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81303132); 中国中医科学院基本科研业务费自主选题项目 (Z070803)。

△ 通讯作者, E-mail: 1298317864@qq. com。

(NBD)组成,2个结构域由1个调节区连接。调节区上包含众多蛋白激酶 A(PKA)和蛋白激酶 C(PKC)磷酸化位点,通道的激活需要有 PKA 和 PKC 的协同作用^[27]。通过 CFTR 氯通道的氯电流是调节心脏电活动的主要阴离子电流,其生理作用主要是减少由肾上腺素受体激发引起的钙电流带来的动作电位时程(APD)延长,为心肌缺血及再灌注损伤中心肌细胞动作电位改变的重要分子基础之一。当心肌缺血缺氧、心肌细胞肿胀时,导致内源性儿茶酚胺释放,PKA 调节的氯电流显出重要作用,参与动作电位时程缩短,从而可引发严重的心律失常^[28]。

2.2 钙激活氯通道 目前对于心脏钙激活的氯离子通道的基因研究还不明确,在静息状态下细胞内钙的浓度很低,钙激活氯通道电流对心脏舒张期膜电位几乎无影响;在心肌细胞内钙瞬间释放时,可引起瞬间外向钙激活氯通道电流的激活。肥厚心肌细胞内钙超载导致细胞内钙的瞬时释放引起钙激活氯通道电流的开放快速增加,而引起延迟后除极,增加肥厚心肌发生恶性室性心律失常的概率^[29]。

2.3 容积调节性氯通道 心脏容积调节性氯通道在豚鼠、兔、犬及人的心室、心房肌细胞中都有表达^[30]。低渗条件下引起的细胞膨胀可激活该通道,电流为非时间依赖性,外向整流,其在氯离子浓度对称时的外向整流是与钙激活氯通道相区别的特征之一。容积调节性氯通道的激活同样产生外向整流电流可以缩短 APD,促进折返性心律失常的发展,它产生的这种电变化可能为心肌缺血再灌注心律失常发生、发展的重要因素^[31]。然而,在心力衰竭的情况下,由于 K⁺ 电流复极产生的下调作用使 APD 延长,APD 的延长能够促成早期后除极,引发局灶的触发性快速心律失常^[32]。

2.4 电压依赖性氯通道 又称 ClC 家族氯通道,目前发现 9 种编码电压依赖性氯通道基因,为 ClC-0、ClC-1、ClC-2^[33]、ClC-K、ClC-3^[34]、ClC-4、ClC-5、ClC-6、ClC-7。Duan 等^[35] 认为 ClC-2 通道在静息状态下关闭,可由超级化、细胞肿胀、酸中毒等激活,并具有内向整流型特性,能够引起细胞静息膜电位除极化,增加心肌细胞自律性,引起心律失常,可被镉、锌、9-AC 阻断。

3 小 结

心肌细胞及心脏功能的正常维持,有赖于心肌细胞多种离子通道间的相互协调、相互作用,钠离子和氯离子通道的基因、结构、功能及活性等任何一种发生了改变,都可能引发不同种类的室性心律失常,只有进一步掌握各离子通道间的关系,才能最终解读心脏的电生理活动。尽管目前对离子通道结构和功能的研究还处于初级阶段,但随着离子通道进一步被解析,将会设计出更多的离子通道调节剂以应对室性心律失常。希望本篇综述能为相关的研究者提供有意义的参考。

参考文献

[1] 李姝,王得利,栾海蓉. 心肌离子通道的研究进展[J]. 牡丹江医学院学报,2009,30(3):73-75.
[2] 杨宝峰,蔡本志. 心律失常发病机制研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2010,37(2):81-88.
[3] 林玉璧,张树龙,Karl-Heinz K. 心律失常的转子机制及其临床意义[J]. 江苏实用心电学杂志,2014,23(4):277-291.
[4] 郑建发,柯永胜. 心脏离子通道病的研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学,2008,13(4):457-462.
[5] 周松,李世根,刘永刚,等. 钠离子通道及其作用药物研究

进展[J]. 医药导报,2008,27(7):822-823.
[6] 王红艳,勾萌,肖蓉,等. 钠离子通道疾病及其抑制剂生物学功能研究进展[J]. 生物工程学报,2014,30(6):116.
[7] Song WH, Shou WN. Cardiac Sodium Channel Nav 1. 5 Mutations and Cardiac Arrhythmia[J]. Pediatric Cardiology,2012,33(6):943-949.
[8] 刘刚,郭继鸿. 心脏钠离子通道疾病研究进展[J]. 临床心血管病杂志,2009,25(3):166-169.
[9] 方丹红,吴立群,陆林,等. 心脏钠离子通道 α 亚单位 SCN5A 基因多态性与特发性室性心律失常[J]. 诊断学理论与实践,2007,6(4):353-357.
[10] 胡金柱,洪葵. 心脏 Nav1. 5 相互作用蛋白与心律失常[J]. 中华心血管病杂志,2011,39(7):682-685.
[11] Wang Q, Shen J, Li Z, et al. Cardiac Sodium Channel mutations in patients with long QT syndrome, an inherited cardiac arrhythmia [J]. Hum Mol Genet, 1995, 4 (9): 1603-1607.
[12] Jiang C, Atkinson D, Towbin JA, et al. Two long QT syndrome loci map to chromosomes 3 and 7 with evidence for further heterogeneity [J]. Nat Genet, 1994, 8 (2): 141-147.
[13] Vincent GM, Timothy KW, Leppert M, et al. The spectrum of symptoms and QT intervals in carriers of the gene for the long-QT syndrome [J]. New Engl J Med, 1992,327(12):846-852.
[14] 张丹梅,韩勇,贾静,等. 自发性室颤动的基因基础和分子机制[J]. 临床心电学杂志,2003,12(3):176-178.
[15] 张艳敏,周南. 心脏钠离子通道病从基础到临床[J]. 中华儿科杂志,2013,51(11):874-876.
[16] 刘福强. Brugada 综合征患者心脏钠通道蛋白 α 亚基编码基因检测及致病机理探讨[D]. 广州:南方医科大学,2012.
[17] Antzelevitch C. In vivo human demonstration of phase 2 reentry[J]. Heart rhythm,2005,2(8):804-806.
[18] Séverine P, Anne-Flore Z, Jakob O, et al. SAP97 and dystrophin macromolecular complexes determine two pools of cardiac sodium channels Nav1. 5 in cardiomyocytes[J]. Circ Res,2011,108(3):294-304.
[19] Skinner JR, Chung SK, Montgomery D, et al. Near-miss SIDS due to Brugada syndrome[J]. Arch Dis Child,2005,90(5):528-529.
[20] Shy D, Gillet L, Abriel H. Cardiac sodium channel Nav 1. 5 distribution in myocytes via interacting proteins: the multiple pool model [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1833(4):886-894.
[21] Berne P, Brugada J. Brugada syndrome 2012[J]. Circulation J,2012,76(7):1563-1571.
[22] Klaver EC, Versluijs GM, Wilders R. Cardiac ion channel mutations in the sudden infant death syndrome[J]. Int J Cardiol,2011,152(2):162-170.
[23] Cronk LB, Ye Bin, Kaku T, et al. Novel mechanism for Sudden Infant Death Syndrome: persistent late Sodium current secondary to mutations in caveolin-3 [J]. Heart rhythm,2007,4(2):161-166.

[24] 周婷婷,张建鹏,张振伟,等. 电压门控钠离子通道 β 亚基的研究[J]. 生命的化学, 2010, 30(4): 540-544.

[25] 丁超,何振山,齐书英,等. 兔急性心肌梗死后二月心肌细胞钠离子通道活性的变化[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2003, 17(2): 134-136.

[26] 姚金朋,高尔. 心脏氯离子通道研究进展[J]. 医学综述, 2007, 13(22): 1688-1691.

[27] 薄冰. 氯离子通道在心脏起搏活动中的作用研究进展[J]. 科技资讯, 2014, 12(14): 210.

[28] Ao Mei, Venkatasubramanian J, Boonkaewwan C, et al. Lubiprostone activates Cl^- secretion via cAMP signaling and increases membrane CFTR in the human colon carcinoma cell line, T84[J]. Digest Dis Sci, 2011, 56(2): 339-351.

[29] Middleton LM, Harvey RD. PKC rCFTR Cl^- channel function in guinea pig ventricular myocytes[J]. Am J Physiol, 1998, 275(1): 293-302.

[30] 丁铭格,王晓明. 容积敏感性外向整流氯离子通道的研究进展[J]. 国际老年医学杂志, 2010, 31(6): 250-253.

[31] 郑雪冰,王蕊,杨海玲. 氯离子通道及其阻滞剂对家兔心肌缺血再灌注心律失常的影响[J]. 中华医学杂志, 2013, 93(15): 1168-1173.

[32] Zhou SS. Cl^- channels: what role do they play in mammalian heart[J]. Acta physiologica Sinica, 2006, 58(2): 104-109.

[33] 薄冰. ClC-2 氯离子通道在心脏起搏活动中的作用研究进展[J]. 科技创新导报, 2014, 11(15): 25.

[34] 薄冰. 心脏 ClC-3 容积感受性氯离子通道研究进展[J]. 科技资讯, 2014, 12(15): 223-224.

[35] Duan DY, Liu LL, Bozeat N, et al. Functional role of anion channels in cardiac diseases[J]. Acta Pharmacol Sin, 2005, 26(3): 265-278.

(收稿日期: 2015-06-25 修回日期: 2015-09-15)

• 综 述 •

酶原颗粒蛋白 16 在消化系统中的表达部位及功能研究进展*

朱义芳^{1,2}, 郭元彪²综述, 陶传敏^{1△}审校(1. 四川大学华西医院实验医学科, 成都 610041; 2. 四川省成都市第三人民医院实验医学研究部 610031)

【关键词】 酶原颗粒蛋白 16; 结构; 表达部位; 功能
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2016. 05. 051 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)05-0698-03

酶原颗粒蛋白 16(ZG16)是 1994 年在胰腺酶原颗粒中发现的一种分泌性糖蛋白,该蛋白主要位于胰腺的腺泡细胞、肝细胞以及从胃到直肠的整个消化道的杯状细胞内,且表达部位不同的蛋白发挥的功能也不同。截至目前,对该蛋白的功能认知甚少,现有的功能研究主要指向调控蛋白分选、真菌识别、离子传导。酶原颗粒蛋白 16 在胰腺、肝脏、胃肠道等部位的正常组织高表达,而在肿瘤发生后检测到表达降低或缺失,该蛋白在正常组织中的功能及是否调控肿瘤的发生与演进仍是亟待解决的难题。虽然在胚胎干细胞及诱导多功能干细胞中也有不同程度表达,但该蛋白是否与多功能干细胞的免疫原性有关仍存在极大争议。本文就其发现与结构、在消化系统中的表达部位、可能的功能等方面的研究进展做一阐述。

1 ZG16 的发现与结构

胰腺腺泡细胞内存在大量的酶原颗粒,用于储存内质网合成、高尔基体包装的各种酶类。ZG16 最初即发现位于大鼠胰腺酶原颗粒膜上,蛋白相对分子质量为 16×10^3 ^[1]。分离获取大鼠胰腺酶原颗粒膜,ZG16 蛋白印迹可获得一条强带(单体)和一条弱带(二聚体)^[2]。其他研究通过液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)和同位素相对标记与绝对定量(iTRAQ)技术也在酶原颗粒蛋白中检测到 ZG16^[3-4]。但 ZG16 非膜蛋白,没有跨膜结构域,该蛋白通过糖类识别结构域与酶原颗粒膜上的糖蛋白结合^[2]。用 ZG16 抗体预先处理酶原颗粒膜,可使结合到膜

上的 ZG16 蛋白量降低约 50%^[2]。Schmidt 等^[5]也证实了 ZG16 结合到酶原颗粒膜上,用碳酸氢钠处理后可使 ZG16 从膜上脱离,从而增加该蛋白的检测量,用碳酸氢钠处理酶原颗粒内容物也能在其中检测到少量该蛋白。

ZG16 糖类识别区域的氨基酸序列与植物凝集素 Jacalin 序列相似,因而归属于 Jacalin 凝集素家族。ZG16 具有核心凝集素结构域(氨基酸残基 21~159),两个半胱氨酸残基(cys164,cys167)紧随其后,可能形成分子内二硫键。ZG16 形成 β 折叠结构(3 个 β 折叠片段,片段 1: β_1 、 β_2 、 β_{11} 、 β_{12} ,片段 2: β_3 、 β_4 、 β_6 ,片段 3: β_7 ~ β_{10}),还具有一个 α 螺旋结构位于 β_2 和 β_3 链之间。ZG16 的糖结合位点由三个环组成,包括位于 β_1 、 β_2 之间的 GG 环,位于 β_7 、 β_8 之间的识别环,位于 β_{11} 、 β_{12} 之间的结合环。ZG16 通过糖结合位点与甘油分子结合,也可通过 lys102、lys106、lys122 形成的空间结构在其蛋白表面形成阳性正电荷通道,与阴性负电荷的糖胺聚糖结合^[6]。

2 ZG16 与消化系统

胰腺是人体重要的消化腺,能形成并分泌酶原颗粒内的多种蛋白酶。目前研究表明,ZG16 位于胰腺的酶原颗粒膜上,在胰腺出现病理性改变时,ZG16 水平也会随之改变。Borta 等^[7]的研究发现碳酸氢钠可将 ZG16 从酶原颗粒膜上洗下来。胰腺酶原颗粒膜提取的胆固醇-鞘磷脂微区能检测到 ZG16 蛋白,提示分泌性凝集素 ZG16 可能通过与膜微区上的糖脂或糖

* 基金项目:成都市卫计委科学研究基金资助项目(2014133)。
△ 通讯作者,E-mail:53113072@qq.com。