

β -肾上腺素受体对 HERG 钾通道的调控

汪和贵综述 邹建刚审校

【摘要】 室性心律失常通常因运动或情绪应激诱发,特别是在先天性长 QT 综合征(LQTS)的患者。运动或情绪应激刺激交感神经系统,主要引起心脏 β -肾上腺素受体的激活。快速激活延迟整流钾电流(I_{Kr})在心肌动作电位的复极过程中发挥关键的作用, I_{Kr} 的减弱可延长心肌动作电位时程,导致 LQTS。研究发现,抑制 HERG/ I_{Kr} 电流,导致心脏复极延长,这对应激增加致死性心律失常的发生提供了一个病理生理的解释。现就 β -肾上腺素受体对 HERG 钾通道调控机制及其临床意义作一综述。

【关键词】 肾上腺素受体; HERG 钾通道; 心律失常; 长 QT 综合征

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2010.05.012

心脏 HERG (human ether-a-go-go related gene)钾通道或 Kv11.1 钾通道属于电压门控钾通道,其介导的快速激活延迟整流钾电流(I_{Kr})是人类心肌细胞动作电位 3 期快速复极的主要电流。HERG 钾通道的功能受多种因素调节,包括肾上腺素受体对 HERG 钾通道调控,是先天性 LQT2 综合征患者在运动或情绪应激情况下猝死的重要原因之一。

1 HERG 钾通道的分子结构及特性

HERG 基因编码快速延迟整流钾通道的 α 亚基, α 亚基由 1159 个氨基酸组成,与 minK 编码的 β 亚基及 minK 相关蛋白(MiRP1)共同组成快速激活延迟整流钾通道。HERG 钾通道是电压门控性钾通道 Kv 家族中的一员。它是由 4 个结构相同的亚单位组成,每个亚单位由 6 个跨膜的 α 螺旋片段(S1-S6),羧基端(C-端)和氨基端(N-端),S5 和 S6 之间的孔区(pore)构成^[1,2]。每个亚单位的 S1-S4 跨膜结构域是电压敏感区域,起到感受膜电位变化的功能^[3]。S5 和 S6 之间的孔区是一个高度保守的氨基酸序列,由苏氨酸/丝氨酸-缬氨酸-甘氨酸-酪氨酸/苯丙氨酸-甘氨酸构成,协调钾离子通过。高分辨率晶体结构研究显示 S5 和 S6 之间的孔区组装成精敏的选择性和高通量的离子传导通路^[4]。S5 螺旋区域与 HERG 钾通道的激活与失活作用有关^[5]。每一个 HERG 亚单位都有胞浆侧的 N-端和 C-端,N-端的 Per-Arnt-Sim(PAS)区域与 HERG 通

道的灭活作用有关,C-端包含环核苷酸结合区域(CNBD),具有重要的生物物理学特征。

在哺乳动物心肌细胞动作电位中, I_{Kr} 在维持动作电位的平台期和 3 期复极中起重要作用。与其他钾通道类似,HERG 钾通道具有关闭、开放、失活 3 种不同的状态,但该通道具有慢激活(activation)、慢去活(deactivation),和快失活(inactivation)的特性。这个特性使得该通道在去极化电压下产生外向电流,从而延长动作电位 2 期时程;同时促使复极进入 3 相期^[6]。

2 cAMP-PKA 对 HERG 钾通道的调控

环磷酸腺苷(cAMP)依赖的蛋白激酶 A(PKA)是丝氨酸/苏氨酸激酶,它能调节许多细胞的加工过程,在病理条件下被激活,如在应激和心力衰竭时。HERG 钾通道蛋白上含有多个丝氨酸/苏氨酸位点,如位于 N 端 S283 和 C 端 S890、S895、S1137。PKA 可作用于 HERG 蛋白上的磷酸化位点,改变蛋白磷酸化状态,影响蛋白的合成、转运以及通道门控特性,调节 HERG 通道的功能。而 cAMP 可通过直接和间接途径双向调节 HERG 钾通道。激活 cAMP 依赖的 PKA 引起 HERG 通道磷酸化,导致 HERG 电流快速下降;cAMP 可以直接与 HERG 通道结合引起相反的作用,但 cAMP 介导的总效应是有效电流净衰减^[7]。当 HERG 结合钾通道的附属蛋白 MiRP1 或 minK 时,cAMP 直接作用将被扩大。如果 PKA 介导的途径被选择性抑制,而 cAMP 仍升高,则肾上腺素刺激对心肌细胞膜复极化产生有利效应,为 PKA 抑制剂治疗心律失常提供理论依据。近年的研究发现,cAMP-PKA 对

基金项目:江苏省高校自然科学基金(09KJB320008)

作者单位:210029 南京医科大学第一临床医学院心血管内科

HERG 蛋白磷酸化作用可以加速 HERG 蛋白的合成率及部分增加蛋白的稳定性^[8]。

3 β -肾上腺素受体对 HERG/ I_{Kr} 钾通道的调控

3.1 β -肾上腺素受体介导的信号途径

G 蛋白偶联受体家族(GPCR)是参与介导信号传导的细胞膜表面受体中最大的一族。 β -肾上腺素受体(β -AR)是典型的 GPCR,目前至少已发现 3 种亚型: β_1 -、 β_2 -及 β_3 -AR。它们广泛参与体内重要的生物功能活动。 β_1 -AR 信号传导途径: β_1 -AR 激活通过 G_s 蛋白刺激腺苷酸环化酶(AC),导致细胞内 cAMP 水平增加;第二信使 cAMP 进一步激活 PKA,PKA 催化底物蛋白磷酸化。有越来越多的资料表明, β_2 -AR 也参与调节心脏的各项功能,但与 β_1 -AR 介导的功能存在很大的差异。 β_2 -AR 信号传导途径比较复杂^[9]; β_2 -AR 可以与 G_s 和 G_i 蛋白偶联,经典的途径是与 G_s 蛋白偶联,通过 AC-cAMP-PKA 途径发挥作用;非经典的途径是与 G_i 蛋白偶联,通过磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K),磷酸二酯酶(phosphodiesterase, PDE),ERK 等途径发挥作用。 β_3 -AR 信号传导途径目前尚存在疑问,可以与 G_s 蛋白偶联,通过一氧化氮合酶(NOS)途径发挥作用^[10]。

3.2 β -AR 对 HERG/ I_{Kr} 钾通道的调控

β -AR 对 HERG/ I_{Kr} 通道调控的报道不尽相同,在最早的报道中认为 I_{Kr} 电流的大小不受异丙肾上腺素的影响。Heath 等^[11]观察到在较低浓度范围的异丙肾上腺素可浓度依赖性地增加 I_{Kr} 电流,此通路依赖于 PKC 的激活;且与细胞内钙离子浓度有关,当使用硝苯地平阻断 L-型钙电流时,异丙肾上腺素增加 I_{Kr} 电流的作用被抑制。他们认为 β -AR 激活后通过增加细胞内钙离子浓度,激活 PKC,减少 C 型失活而使得 I_{Kr} 电流幅度增大。他们研究还发现,异丙肾上腺素可增加兔子的窦房结起搏细胞 I_K 电流,此通路于 PKA 的激活有关^[12]。Karle 等^[13]证实 10 μ M 的异丙肾上腺素可使 I_{Kr} 电流降低, β -AR 激活对 I_{Kr} 电流的抑制效应主要是通过 β_1 -AR 起作用的,且该作用是通过 cAMP-PKA 通路。他们认为较高剂量的异丙肾上腺素抑制 I_{Kr} 电流在心律失常的发生机制中发挥重要的作用。引起这些结果不同的原因有:(1)实验技术以及方法的不同,Heath 等^[11]用的是两性霉素 B 穿孔的全细胞膜片钳技术和锐利电极的转换电压钳技术,而 Karle 等用的是全细胞膜片钳技术。(2)Karle 等^[13]用的异丙肾上腺素浓度是 Heath 等^[11]用的 1000 倍。(3)cAMP 可通过直接与 HERG 钾通道中的 cBND 位点结合增加 I_{Kr} 电流,cAMP 还能激活 PKA 后降低 I_{Kr} 电流,产生双向调控 I_{Kr} 电流^[7]。目前的主要观点认为在应激状态下, I_{Kr} 是肾上腺素能/cAMP 介导的心肌复极化中最主要部分, β -肾上腺素刺激后使细胞内 cAMP 水平升高,结合到通道蛋白,引起 PKA 介导的磷酸化,抑制 I_{Kr} 幅度。目前 β_2 -和 β_3 -AR 是否参与对 HERG 通道的调控以及其细胞内信号机制文献报道很少。Karle 等^[13]报道 β_2 -和 β_3 -AR 刺激对豚鼠的心室肌细胞 I_{Kr} 电流影响较弱。

在心力衰竭和心肌梗厚等病理情况下, β_1 -AR 下调而 β_2 -AR 相对增加, β -AR 对 HERG 通道的调控是否发生变化有待深入研究。 α -AR 激活亦抑制 I_{Kr} 电流^[14], α -AR 与 β -AR 对 HERG 通道的调控可能存在交叉对话。

3.3 14-3-3 ϵ 对 β -AR 调控 HERG/ I_{Kr} 钾通道的影

响

β_1 -AR 对 HERG 通道的调控还受衔接蛋白 14-3-3 ϵ 的影响。目前已鉴定出 HERG 蛋白与 14-3-3 ϵ 存在相互作用,形成一种大分子复合物可以动态地调控 HERG 通道。这种相互作用导致通道活性的改变,使心脏复极化过程中 HERG 电流更快激活;还可以阻止磷酸酶从细胞内释放,稳定了通道的 PKA 磷酸化状态的时间,从而增强 β -AR 对 HERG 通道活性的调控作用。LQT2 患者中新的基因突变(G965X、R1014PfsX39、V1038AfsX21)可引起 HERG 亚单位 C-端截断和 C-端 PKA 磷酸化位点 S1137 缺失。在体外共同表达这些突变的 HERG 亚单位和 14-3-3 ϵ ,同 WT-HERG 相比,14-3-3 ϵ 并不引起 HERG 通道激活曲线向超极化方向移位。14-3-3 ϵ 对突变的 HERG 通道功能作用的改变或缺失可能是肾上腺素介导心律失常的一个新的病理生理机制^[15]。 β_1 -AR/14-3-3 ϵ 与 HERG 通道的动态结合与肾上腺素能调节心脏复极化和不应性密切相关^[16]。

4 临床意义

肾上腺素的 HERG 电流调控是致心律失常的潜在机制,为抗心律失常治疗开辟了一个新的途径。在病理情况下,例如缺血性心脏病、心力衰竭以及先天性 LQTS 患者,运动和情绪的应激激活交感神经系统,兴奋心脏 α -和 β -AR,主要激活 β -AR,导致 I_{Kr} /HERG 电流减少,使复极时间延长,诱发致命性室性心律失常。迄今为止, β 受体阻滞剂已作

为常规的抗心律失常药物,特别是在先天性 LQTS 患者。一项多变量分析结果显示,在国际注册的 2 型 LQTS 患者 442 例中,服用 β 受体阻滞剂阿替洛尔、纳多洛尔、普萘洛尔及美托洛尔均能显著减少高危患者心脏事件的发生,其中使 LQT2 女性患者心脏事件减少 71%^[17]。由此可见, β 受体阻滞剂的抗心律失常作用部分要归功于它抑制 β -肾上腺素对 hERG 电流的调控。

肾上腺素对 HERG 调控的信号传导机制已被详细的报道,有更多潜在的目标可用于治疗心律失常。(1)腺苷酸环化酶抑制剂或磷酸二酯酶的激活可能抵消 β -肾上腺素激活对 HERG 电流的抑制,从而产生抗心律失常作用。(2)抑制 G 蛋白所需的下游信号分子可能是潜在的治疗选择。(3)抑制 PKA 或 PKC 可能阻断肾上腺素对 HERG 电流的调控,从而发挥抗心律失常作用^[18]。然而,PKC 抑制剂(双吡啶马来酸亚胺)可以直接阻滞 HERG 通道,引起致心律失常倾向^[19],其他 PKC 抑制剂亦有致心律失常倾向。

对肾上腺素的 HERG 电流调控的基础研究,使理论上的治疗选择成为可能,包括药物作用于修饰蛋白,如 14-3-3 ϵ 、minK 和 MiRP1。在诊断方面,肾上腺素激发试验可以作为有效工具,对临床怀疑是先天性 LQTS 患者的基因型进行预测,结合基因筛查帮助诊断和管理患者^[20, 21]。

总之,随着 β -AR 对 HERG 钾通道的调控机制认识的加深,应激诱发的心律失常与心脏 HERG/ I_{Kr} 电流之间的联系为临床药物预防和治疗室性心律失常提供了理论依据,为将来发展新型的抗心律失常药物提供理论基础。但是在心脏病理条件下(心力衰竭、心肌肥厚及心肌梗死),HERG/ I_{Kr} 通道功能的变化及 β -AR 对它的调控在致命性心律失常的发病机制中的作用还有待深入研究。

参 考 文 献

- [1] Ferrer T, Rupp J, Piper DR, et al. The S4-S5 linker directly couples voltage sensor movement to the activation gate in the human ether-a'-go-go-related gene (hERG) K⁺ channel [J]. J Biol Chem, 2006, 281(18): 12858-12864.
- [2] Sanguinetti MC, Tristani-Firouzi M. HERG potassium channels and cardiac arrhythmia [J]. Nature, 2006, 440(7083): 463-469.
- [3] Long SB, Campbell EB, Mackinnon R. Voltage sensor of Kv1.2: structural basis of electromechanical coupling [J]. Science, 2005, 309(5736): 903-908.
- [4] Long SB, Tao X, Campbell EB, et al. Atomic structure of a voltage-dependent K⁺ channel in a lipid membrane-like environment [J]. Nature, 2007, 450(7168): 376-382.
- [5] Ju P, Pages G, Riek RP, et al. The pore domain outer helix contributes to both activation and inactivation of the HERG K⁺ channel [J]. J Biol Chem, 2009, 284(2): 1000-1008.
- [6] Perrin MJ, Subbiah RN, Vandenberg JI, et al. Human ether-a-go-go related gene (hERG) K⁺ channels: function and dysfunction [J]. Prog Biophys Mol Biol, 2008, 98(2-3): 137-148.
- [7] Cui J, Melman Y, Palma E, et al. Cyclic AMP regulates the HERG K⁺ channel by dual pathways [J]. Curr Biol, 2000, 10(11): 671-674.
- [8] Chen J, Sroubek J, Krishnan Y, et al. PKA phosphorylation of HERG protein regulates the rate of channel synthesis [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009, 296(5): H1244-H1254.
- [9] Woo AY, Wang TB, Zeng X, et al. Stereochemistry of an agonist determines coupling preference of beta2-adrenoceptor to different G proteins in cardiomyocytes [J]. Mol Pharmacol, 2009, 75(1): 158-165.
- [10] Ursino MG, Vasina V, Raschi E, et al. The beta3-adrenoceptor as a therapeutic target: current perspectives [J]. Pharmacol Res, 2009, 59(4): 221-234.
- [11] Heath BM, Terrar DA. Protein kinase C enhances the rapidly activating delayed rectifier potassium current, I_{Kr} , through a reduction in C-type inactivation in guinea-pig ventricular myocytes [J]. J Physiol, 2000, 522 Pt 3: 391-402.
- [12] Lei M, Brown HF, Terrar DA. Modulation of delayed rectifier potassium current, i_{Kr} , by isoprenaline in rabbit isolated pacemaker cells [J]. Exp Physiol, 2000, 85(1): 27-35.
- [13] Karle CA, Zitron E, Zhang W, et al. Rapid component $I(Kr)$ of the guinea-pig cardiac delayed rectifier K⁺ current is inhibited by beta(1)-adrenoreceptor activation, via cAMP/protein kinase A-dependent pathways [J]. Cardiovasc Res, 2002, 53(2): 355-362.
- [14] Wang S, Xu DJ, Cai JB, et al. Rapid component $I(Kr)$ of cardiac delayed rectifier potassium currents in guinea-pig is inhibited by alpha(1)-adrenoreceptor activation via protein kinase A and protein kinase C-dependent pathways [J]. Eur J Pharmacol, 2009, 608(1-3): 1-6.
- [15] Choe CU, Schulze-Bahr E, Neu A, et al. C-terminal HERG (LQT2) mutations disrupt I_{Kr} channel regulation through 14-3-3epsilon [J]. Hum Mol Genet, 2006, 15(19): 2888-2902.
- [16] Tutor AS, Delpon E, Caballero R, et al. Association of 14-3-3 proteins to beta1-adrenergic receptors modulates Kv11.1 K⁺ channel activity in recombinant systems [J]. Mol Biol Cell, 2006, 17(11): 4666-4674.

(下转第 308 页)

究提示,在慢性房颤行房室结消融的患者行双室起搏比右室起搏更能保存左室功能^[7]。在近年国外研究中,希氏束及希氏束附近起搏被证实接近正常的心室激动顺序,并具有良好的血流动力学效应^[8]。

本研究结果提示,房颤发生率 VVI 组较 DDD 组高。其原因是由于 VVI 起搏不能保持房室收缩的顺序性,常出现房室同时收缩,心房内压力及张力增高^[9],从而加重心房重构,使心房组织和(或)功能改变,房性心律失常发生率升高。最近研究显示,在病态窦房结患者中右室心尖部起搏最小化可减少房颤的发生率^[10]。目前认为,心房扩大是房性心律失常的一个最主要的危险因素。本研究的结果中 VVI 和 DDD 起搏患者的缺血性脑卒中发生率无明显差异。

本组的研究结果表明,Ⅲ度房室结传导阻滞的窦性心律老年患者选择 DDD 起搏模式较 VVI 起搏模式,房颤及心力衰竭的发生率低,故对于无房颤、房扑的高度房室传导阻滞的老年患者推荐安装 DDD 起搏器。本研究样本量有限,尚有待扩大样本量进一步总结。

参 考 文 献

[1] Lamas GA, Lee KL, Sweeny MO, et al. Ventricular pacing or dual-chamber pacing for sinus-node dysfunction[J]. N Engl J Med, 2002, 346(24):1854-1862.

[2] Skanes AC, Krahn AD, Yee R, et al. Progression to chronic atrial fibrillation after pacing; the Canadian Trial of Physiologic Pacing. CTOPP Investigators[J]. J Am Coll Cardiol, 2001, 38(1):167-172.

[3] Gillis AM. Redefining physiologic pacing; lessons learned from

recent clinical trial [J]. Heart Rhythm, 2006, 3(11):1367-1372.

[4] Tops LF, Schalij MJ, Holman ER, et al. Right ventricular pacing can induce ventricular dyssynchrony in patients with atrial fibrillation after atrioventricular node ablation[J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 48(8):1642-1648.

[5] Varma N. Left ventricular conduction delays induced by right ventricular apical pacing; effect of left ventricular dysfunction and bundle branch block[J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2008, 19(2):114-122.

[6] Vardas PE, Auricchio A, Blanc JJ, et al. Guidelines for cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy: the task force for cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association[J]. Eur Heart J, 2007, 28(18):2256-2295.

[7] Doshi RN, Daoud EG, Fellows C, et al. Left ventricular-based cardiac stimulation post AV nodal ablation evaluation (the PAVE study) [J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2005, 16(11):1160-1165.

[8] Barba-Pichardo R, Moríña-Vázquez P, Venegas-Gamero J, et al. The potential and reality of permanent his bundle pacing [J]. Rev Esp Cardiol, 2008, 61(10):1096-1099.

[9] Nielsen JC, Kristensen L, Andersen HR, et al. A randomized comparison of atrial and dual-chamber pacing in 177 consecutive patients with sick sinus syndrome; echocardiographic and clinical outcome [J]. J Am Coll Cardiol, 2003, 42(4):614-623.

[10] Sweeney MO, Bank AJ, Nsah E, et al. Minimizing ventricular pacing to reduce atrial fibrillation in sinus-node disease[J]. N Engl J Med, 2007, 357(10):1000-1008.

(收稿:2010-05-17 修回:2010-07-19)

(本文编辑:金谷英)

(上接第 297 页)

[17] Goldenberg I, Bradley J, Moss A, et al. Beta-Blocker Efficacy in High-Risk Patients with the Congenital Long-QT Syndrome Types 1 and 2; Implications for Patient Management [J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2010, 21(8):893-902.

[18] Thomas D, Hammerling BC, Wimmer AB, et al. Direct block of hERG potassium channels by the protein kinase C inhibitor bisindolylmaleimide I (GF109203X) [J]. Cardiovasc Res, 2004, 64(3):467-476.

[19] Zhang HC, Derian CK, McComsey DF, et al. Novel indolylindazolylmaleimides as inhibitors of protein kinase C-beta; synthesis, biological activity, and cardiovascular safety [J]. J

Med Chem, 2005, 48(6):1725-1728.

[20] Vyas H, Hejlik J, Ackerman MJ. Epinephrine QT stress testing in the evaluation of congenital long-QT syndrome; diagnostic accuracy of the paradoxical QT response [J]. Circulation, 2006, 113(11):1385-1392.

[21] Clur SA, Chockalingam P, Filippini LH, et al. The role of the epinephrine test in the diagnosis and management of children suspected of having congenital long QT syndrome [J]. Pediatr Cardiol, 2010, 31(4):462-468.

(收稿:2010-05-14 修回:2010-06-07)

(本文编辑:丁媛媛)