

# 小电导钙激活钾离子通道在心房颤动中的研究进展

高 阳 奚 望 申 华 王志农

**【摘要】** 小电导钙激活钾离子通道(small conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels, SK 通道)是广泛存在于心肌细胞中的仅受细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  调控的离子通道,可以调节细胞膜电位平衡。近来研究发现,SK 通道参与了心房颤动(房颤)的发生与发展,有望成为房颤治疗的新靶点。该文介绍了 SK 通道在房颤中的研究进展及 SK 通道阻滞剂的临床应用前景。

**【关键词】** 小电导钙激活钾离子通道;心房纤颤;靶向治疗

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2017.02.010

心房颤动(房颤)是临床常见的心律失常,是脑卒中的独立危险因素,可增加血栓及栓塞风险。根据房颤的发作特点,可分为初发性房颤、持续性房颤、长程持续性房颤及永久性房颤<sup>[1]</sup>。房颤的治疗主要包括射频消融及药物治疗,目的是转复窦性心律并控制心室率。

随着对房颤发生发展机制研究的逐步深入,发现小电导钙激活钾离子通道(small conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels, SK 通道)在房颤心房电重构(atrial electrical remodeling, AER)中发挥重要作用<sup>[2]</sup>,其特异性通道阻滞剂成为目前房颤基因及分子靶向治疗的研究热点<sup>[3]</sup>。

## 1 SK 通道的基本特点

### 1.1 SK 通道的分类

SK 通道仅受细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度调控,激活后可以调控细胞膜电流。通过对小鼠体内注射 SK 通道特异性阻滞剂蜜蜂神经毒素(apamin)引起小鼠抽搐的研究,人们在脑组织中发现了 SK 通道。随后在平滑肌细胞、上皮组织及血细胞中也发现了 SK 通道<sup>[4]</sup>。Tuteja 等<sup>[5]</sup>首次在小鼠及人的心肌细胞中发现 SK 通道的 3 种亚型,Chen 等<sup>[6]</sup>也在人心肌细胞中发现了 SK1 及 SK3 通道。随后,Ozgen 等<sup>[7]</sup>在兔肺静脉中发现了 SK2 及 SK3 通道;Ni 等<sup>[8]</sup>在小鼠心室肌细胞中证实了 SK 通道的存在;Qi 等<sup>[9]</sup>运用 SK 通道特异性阻滞剂 NS8593 证实了犬肺静脉

及左心房肌细胞中 SK 通道的存在;Chen 等<sup>[10]</sup>在起搏细胞如窦房结细胞、房室结细胞中发现了 SK 通道。

根据对 apamin 敏感性的不同,SK 通道可分为 3 种亚型:低敏感度的 SK1 通道( $\text{K}_{\text{Ca}}2.1$ ,由 KCNN1 基因编码)、高敏感度的 SK2 通道( $\text{K}_{\text{Ca}}2.2$ ,由 KCNN2 基因编码)、中敏感度的 SK3 通道( $\text{K}_{\text{Ca}}2.3$ ,由 KCNN3 基因编码)<sup>[11]</sup>。3 种亚型都有 1 个单通道电导,并受细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  调控。中间电导钙激活钾离子通道(IK 或 SK4 通道,由 KCNN4 编码)在功能及结构上与 SK 通道相似,也可归为 SK 家族<sup>[11]</sup>。

### 1.2 SK 通道蛋白复合体及其相关蛋白

离子通道在发挥功能时需要多种蛋白的参与,通过形成蛋白质复合体参与细胞内外  $\text{K}^{+}$  运输<sup>[12]</sup>。SK 通道相关蛋白对 SK 通道的定位、激活及功能发挥具有重要作用,主要由核心部分的  $\alpha$  亚单位及钙调蛋白(calmoduline, CaM)组成,并受细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  调控<sup>[13]</sup>。CaM 对  $\text{Ca}^{2+}$  高度敏感,在 SK 通道对细胞内外  $\text{K}^{+}$  的运输中起到重要的调节作用。通过蛋白质组学研究,Allen 等<sup>[14]</sup>证实 SK 通道通过结合肌酸激酶 2(casein kinase 2, CK2)及蛋白磷酸酶 2A(protein phosphatase 2A, PP2A)定位在细胞膜,CK2 及 PP2A 通过对 CaM 的磷酸化及去磷酸化调控 SK 通道对细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化的敏感性。然而,CK2 及 PP2A 主要对神经细胞的 SK 通道进行调控,对心肌细胞 SK 通道的作用尚需要进一步研究证实。利用酵母菌双杂交技术,部分 SK2 通道相关蛋白陆续被发现,包括  $\alpha$ -辅肌动蛋白 2

基金项目:上海申康医院发展中心新兴前沿技术项目(SHDC12014107)

作者单位:200003 上海,第二军医大学长征医院胸心外科

通信作者:王志农,Email: wangzn007@163.com

( $\alpha$ -actinin2)<sup>[15-16]</sup>、细丝蛋白 A (filamin A)<sup>[17]</sup>、肌球蛋白轻链 2(myosin light chain 2, MLC2)<sup>[18]</sup>, 这些蛋白共同参与调节 SK 通道对细胞内外  $K^+$  的运输。其中,  $\alpha$ -actinin2 和 MLC2 主要与 SK 通道的 C 端相连, 而 filamin A 与 SK 通道的 N 端相连。心肌细胞 SK2 通道通过  $\alpha$ -actinin2 与 L 型钙离子通道相连。研究证明, SK 通道的激活会影响肌浆网中的  $Ca^{2+}$  释放<sup>[19-20]</sup>, 同时心肌细胞肌浆网中  $Ca^{2+}$  内流及释放可能均需要 SK 通道。

## 2 SK 通道与房颤

### 2.1 SK 通道与房颤电重构

房颤电重构由 Wijffels 等<sup>[21]</sup>首次提出, 主要表现为动作电位时程 (action potential duration, APD) 延长、心房有效不应期 (atrial effective refractory period, AERP) 缩短及 AERP 频率适应性降低。心肌细胞动作电位的除极依赖于各种  $K^+$  通道与转运体的参与, 其中包括 SK 通道。早期的研究通过 apamin 阻断小鼠及人心房肌细胞的 SK 通道, 从而延长 APD。然而, apamin 对心室肌细胞的作用却微乎其微, 说明 SK 通道阻滞剂对心房肌细胞有独特的选择性<sup>[22]</sup>。Li 等<sup>[23]</sup>在 SK 通道基因敲除小鼠中发现 SK2 通道缺失会引起小鼠心房肌细胞 APD 明显延长, 对异常兴奋的敏感度增加, 易诱发早后除极, 进而导致房颤发生; 而 SK2 通道缺失对心室肌细胞的 APD 几乎没有影响。Zhang 等<sup>[24]</sup>在小鼠模型中发现 SK3 通道的激活会缩短心房肌细胞的 APD。Ozgen 等<sup>[7]</sup>发现对兔肺静脉肌袖进行短时间快速起搏会激活肺静脉肌袖细胞 SK2 通道, 使外向电流增加, 引起 APD 缩短, 进而诱发房颤。Chen 等<sup>[10]</sup>在兔模型中发现窦房结细胞中 SK 通道的激活程度明显高于肺静脉周围细胞, 同时发现 apamin 可导致窦房结细胞及肺静脉周围细胞放电频率下降, APD 延长。Hsueh 等<sup>[25]</sup>利用光学检测技术发现, 通过 SK 通道阻滞剂可以有效延长犬离体左心房肌细胞中的 APD, 减少房颤发生的可能性。同样, Qi 等<sup>[9]</sup>在心房快速起搏犬模型中观察到肺静脉及左心房肌细胞 SK 通道激活增加, 且肺静脉中 SK2 通道的表达高于左心房肌细胞, 阻断 SK 通道可以降低房颤的可诱发性。Skibsbbye 等<sup>[26]</sup>也通过 SK 通道阻滞剂延长人离体心房肌细胞的 APD。这些研究证实 SK 通道在动物和人心房肌细胞除极中发挥重要作用。另有研究利用动物模型证实房室结细胞中存在 SK 通道, 其激活后

可诱发房颤<sup>[27]</sup>。

也有研究结果与上述结论相悖, Yu 等<sup>[28]</sup>在慢性房颤患者中发现, SK1、SK2 通道的表达及 apamin 敏感性电流明显下降。Ling 等<sup>[29]</sup>发现, 永久性房颤患者中微小 RNA (microRNA)-499 的表达明显下调, 进而引起 SK3 通道表达下调。

总之, 房颤电重构早期倾向于 SK 通道异常激活, 而对于房颤电重构后期 SK 通道激活状态的改变, 目前还存在争议。

### 2.2 SK 通道阻滞剂的双重作用

Diness 等<sup>[30]</sup>将不同的 SK 通道阻滞剂运用在不同的动物模型中 (小鼠、猪、兔), 发现 SK 通道阻滞剂会引起 AERP 的延长, 并影响房颤的发生。Diness 等<sup>[31]</sup>在伴有阵发性房颤的高血压小鼠模型中发现 SK 通道阻滞剂具有抗心律失常作用。Skibsbbye<sup>[32]</sup>在快速起搏小鼠模型中静脉注射 NS8593, 发现其心房肌细胞 AERP 延长, APD 缩短, 房颤的放电频率有效减少, 静脉注射 apamin 后也可出现同样效果。这些研究表明 SK 通道可成为房性心律失常的治疗靶点, 但一些学者的观点与之相反, 认为所有抗心律失常药物均有促心律失常风险。Li 等<sup>[23]</sup>在敲除小鼠 SK2 通道基因后发现小鼠 SK 通道开放减少,  $K^+$  外流减少, 心房肌细胞 APD 延长, 进而诱发早后除极, 导致房颤发生。这提示阻断 SK 通道可引起 APD 延长, 易诱发早后除极, 并可能在此基础上产生折返, 最终促进房颤的发生。此外, Wagner 等<sup>[33]</sup>通过阻断兔心肌细胞 SK 通道发现其发生房性心律失常的风险明显增加。因此, 阻断 SK 通道既可能减少房颤的发生, 也可能增加房颤的发生, 其具体机制可能与 SK 通道异质性表达、心率变化等多种因素相关。

## 3 展望

近年来心肌 SK 通道已经成为心肌电生理及心律失常领域的研究热点, 研究证实 SK 通道参与了房颤的发生与发展, 但 SK 通道具体作用仍需进一步研究。Nagy 等<sup>[34]</sup>记录了小鼠、狗、人心房及心室肌细胞中 APD 变化, 并未发现 apamin 对 APD 的影响。Diness 等<sup>[30]</sup>也在天竺鼠模型中证实 apamin 并没有明显延长其心肌细胞 APD。不同的动物模型、实验室条件及人心肌细胞的复杂性等都可能影响实验结果, 同时心房不同部位 SK 通道的表达也可能存在差异。另外, SK 通道在心室肌细胞中的作用并没有被完全否认, 在转录水平, SK 通道阻滞

剂抗心律失常作用及潜在的促心律失常风险仍有待证实。随着房颤基因治疗及分子靶向治疗研究的深入<sup>[35]</sup>,SK 通道相关基因及阻滞剂的发现将可能推动房颤临床治疗的进展。

### 参 考 文 献

- [1] Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, et al. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS[J]. *Europace*, 2016, 18(11): 13-14.
- [2] Nattel S, Dobrev D. Electrophysiological and molecular mechanisms of paroxysmal atrial fibrillation[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2016, 13(10):575-590.
- [3] Farraha M, Chong JJ, Kizana E, et al. Therapeutic prospects of gene therapy for atrial fibrillation[J]. *Heart Lung Circ*, 2016, 25(8):808-813.
- [4] Stocker M.  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels: molecular determinants and function of the SK family[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2004, 5(10):758-770.
- [5] Tuteja D, Xu D, Timofeyev V, et al. Differential expression of small-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels SK1, SK2, and SK3 in mouse atrial and ventricular myocytes[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(6):2714-2723.
- [6] Chen MX, Gorman SA, Benson B, et al. Small and intermediate conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels confer distinctive patterns of distribution in human tissues and differential cellular localisation in the colon and corpus cavernosum[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2004, 369(6):602-615.
- [7] Ozgen N, Wen D, Sosunov EA, et al. Early electrical remodeling in rabbit pulmonary vein results from trafficking of intracellular SK2 channels to membrane sites [J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 75(4):758-769.
- [8] Ni Y, Wang T, Zhuo X, et al. Bisoprolol reversed small conductance calcium-activated potassium channel (SK) remodeling in a volume-overload rat model[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 384(1-2):95-103.
- [9] Qi XY, Diness JG, Brundel BJ, et al. Role of small-conductance calcium-activated potassium channels in atrial electrophysiology and fibrillation in the dog[J]. *Circulation*, 2014, 129(4):430-440.
- [10] Chen WT, Chen YC, Lu YY, et al. Apamin modulates electrophysiological characteristics of the pulmonary vein and the sinoatrial node[J]. *Eur J Clin Invest*, 2013, 43(9): 957-963.
- [11] Adelman JP, Maylie J, Sah P. Small-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels: form and function[J]. *Annu Rev Physiol*, 2012, 74:245-269.
- [12] Adsit GS, Vaidyanathan R, Galler CM, et al. Channelopathies from mutations in the cardiac sodium channel protein complex[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 61(4):34-43.
- [13] Xia XM, Fakler B, Rivard A, et al. Mechanism of calciumgating insmall-conductance calcium-activated potassium channels[J]. *Nature*, 1998, 395(6701):503-507.
- [14] Allen D, Fakler B, Maylie J, et al. Organization and regulation of small conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel multiprotein complexes [J]. *J Neurosci*, 2007, 293(1): 308-335.
- [15] Lu L, Zhang Q, Timofeyev V, et al. Molecular coupling of a  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel to L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels via  $\alpha$ -actinin2[J]. *Circ Res*, 2007, 100(1):112-120.
- [16] Lu L, Timofeyev V, Li N, et al. Alpha-actinin2 cytoskeletal protein is required for the functional membrane localization of a  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel (SK2 channel) [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(43):18402-18407.
- [17] Rafizadeh S, Zhang Z, Woltz RL, et al. Functional interaction with filamin A and intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  enhance the surface membrane expression of a small-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  (SK2) channel[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(27):9989-9994.
- [18] Lu L, Sirish P, Zhang Z, et al. Regulation of gene transcription by voltage-gated L-type calcium channel, Cav1.3[J]. *J Biol Chem*, 2014, 290(8):4663-4676.
- [19] Terentyev D, Rochira JA, Terentyeva R, et al. Sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  release is both necessary and sufficient for SK channel activation in ventricular myocytes[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 306(5):738-746.
- [20] Mu YH, Zhao WC, Duan P, et al. RyR2 modulates a  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  current in mouse cardiac myocytes[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e94905.
- [21] Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, et al. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats [J]. *Circulation*, 1995, 92(7):1954-1968.
- [22] Xu Y, Tuteja D, Zhang Z, et al. Molecular identification and functional roles of a  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel in human and mouse hearts [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(49): 49085-49094.
- [23] Li N, Timofeyev V, Tuteja D, et al. Ablation of a  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel (SK2 channel) results in action potential prolongation in atrial myocytes and atrial fibrillation [J]. *J Physiol*, 2009, 587(Pt 5):1087-1100.
- [24] Zhang XD, Timofeyev V, Li N, et al. Critical roles of a small conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel (SK3) in the repolarization process of atrial myocytes[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 101(2):317-325.
- [25] Hsueh CH, Chang PC, Hsieh YC, et al. Proarrhythmic effect of blocking the small conductance calcium activated potassium channel in isolated canine left atrium[J]. *Heart Rhythm*, 2013, 10(6):891-898.
- [26] Skibbye L, Poulet C, Diness JG, et al. Small-conductance calcium-activated potassium (SK) channels contribute to action potential repolarization in human atria[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 103(1):156-167.

- [27] Zhang Q, Timofeyev V, Lu L, et al. Functional roles of a  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel in atrioventricular nodes[J]. *Circ Res*, 2008, 102(4):465-471.
- [28] Yu T, Deng C, Wu R, et al. Decreased expression of small-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels SK1 and SK2 in human chronic atrial fibrillation[J]. *Life Sci*, 2012, 90(5-6): 219-227.
- [29] Ling TY, Wang XL, Chai Q, et al. Regulation of the SK3 channel by microRNA-499—potential role in atrial fibrillation [J]. *Heart Rhythm*, 2013, 10(7):1001-1009.
- [30] Diness JG, Sørensen US, Nissen JD, et al. Inhibition of small-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels terminates and protects against atrial fibrillation [J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2010, 3(4):380.
- [31] Diness JG, Skibsbbye L, Jespersen T, et al. Effects on atrial fibrillation in aged hypertensive rats by  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channel inhibition [J]. *Hypertension*, 2011, 57 (6): 1129-1135.
- [32] Skibsbbye L, Diness JG, Sørensen US, et al. The duration of pacing-induced atrial fibrillation is reduced in vivo by inhibition of small conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2011, 57(6):672-681.
- [33] Wagner S, Maier LS. Small conductance  $\text{Ca}$ -activated  $\text{K}$  channel: small but powerful proarrhythmogenic[J]. *Heart Rhythm*, 2013, 10(6):899-900.
- [34] Nagy N, Szűts V, Horváth Z, et al. Does small-conductance calcium-activated potassium channel contribute to cardiac repolarization?[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 47 (5): 656-663.
- [35] Lugenbiel P, Schweizer PA, Katus HA, et al. Antiarrhythmic gene therapy-will biologics replace catheters, drugs and devices?[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 791: 264-273.

(收稿:2016-11-13 修回:2017-01-23)

(本文编辑:胡晓静)

# (上接第 95 页)

- [19] Li B, Li R, Zhang C, et al. MicroRNA-7a/b protects against cardiac myocyte injury in ischemia/reperfusion by targeting poly (ADP-ribose) polymerase [J]. *PloS One*, 2014, 9 (3):e90096.
- [20] Read DE, Gupta A, Ladilov Y, et al. MiRNA signature of unfolded protein response in H9c2 rat cardiomyoblasts[J]. *Cell Biosci*, 2014, 4(1):56.
- [21] Geng HH, Li R, Su YM, et al. The circular RNA Cdr1as promotes myocardial infarction by mediating the regulation of miR-7a on its target genes expression[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0151753.
- [22] He S, Liu P, Jian Z, et al. miR-138 protects cardiomyocytes from hypoxia-induced apoptosis via MLK3/JNK/c-jun pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 441(4): 763-769.
- [23] Bazan HA, Lightell D, Sternbergh WC, et al. Abstract 123: Recently ruptured carotid plaques have increased levels of circular RNA-16, which negatively regulates the proliferative and antiapoptotic microRNA-221: a novel mediator of carotid plaque rupture[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34:A123.
- [24] Bazan HA, Lightell D, Sternbergh WC, et al. Increased circularRNA-16 in acutely symptomatic carotid plaques; a novel mediator of carotid plaque rupture[J]. *J Cardiovasc Surg*, 2014, 59(6):84S.
- [25] Jakobi T, Czaja-Hasse LF, Reinhardt R, et al. Profiling and validation of the circular RNA repertoire in adult murine hearts[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2016, 14 (4):216-223.
- [26] The Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls[J]. *Nature*, 2007, 447(7145): 661-678.
- [27] 史亚飞, 田晓沂. Duchenne 肌营养不良心肌病 1 例[J]. *临床心血管病杂志*, 2011, 27(10):795-796.
- [28] 陈学英, 许萍萍, 代娟娟, 等. 环状 RNA 研究进展[J]. *生命科学*, 2015, 27(9):1125-1132.
- [29] Herman DS, Lam L, Taylor MR, et al. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(7):619-628.
- [30] Du WW, Yang W, Chen Y, et al. Foxo3 circular RNA promotes cardiac senescence by modulating multiple factors associated with stress and senescence responses [J]. *Eur Heart J*, 2016, pii: ehw001. [Epub ahead of print].

(收稿:2016-10-24 修回:2017-01-20)

(本文编辑:丁媛媛)