

2 型长 QT 综合征研究进展

郑泽群 廉姜芳

【摘要】 2 型长 QT 综合征(LQT2)是由 hERG 基因突变引起心肌细胞膜上快速延迟整流钾电流(I_{Kr})减少或完全消失,造成动作电位时程延长,临床上以 QT 间期延长和潜在致命性心律失常为特点。针对高风险性 LQT2 的治疗主要包括 β 受体阻滞剂、植入心律转复除颤器(ICD)等。随着基因编辑、干细胞等技术的发展,针对 hERG 基因突变机制的相关研究取得较大突破。该文对 LQT2 研究进展作简要介绍。

【关键词】 hERG;2 型长 QT 综合征;治疗

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2020.05.004

1 概述

长 QT 综合征(LQTS)主要分为 17 个亚型,是由 15 个常染色体上显性遗传相关基因突变导致的,2 型长 QT 综合征(LQT2)是国内最常见的临床亚型,占全部病例的 30%~45%^[1],由定位于 7q35~36 上的 KCNH2 基因(又称 hERG)发生突变所致。hERG 编码心肌细胞膜上快速延迟整流钾电流(I_{Kr})通道的 α 亚基, I_{Kr} 是心肌复极化的主要离子流,突变的 hERG 基因使 hERG 通道蛋白功能表现为单倍型不足或显性负效应,导致 I_{Kr} 电流减少或完全消失,心电图表现为 QT 间期延长和 T 波异常^[2-3]。在休息或睡眠状态下,突然的噪音、惊吓等相关刺激导致患者体内交感系统激活,引发异常钙瞬变,是 LQT2 发生致命性心律失常如尖端扭转型室性心动过速(TdP)的诱发因素,可突发晕厥甚至心源性猝死。

应用 β 受体拮抗剂及植入心律转复除颤器(ICD)等治疗对预防高风险患者发生致命性心律失常有一定作用^[4]。然而,接受治疗的患者(尤其是女性)仍存在较高生命风险及严重并发症风险^[5]。由于病理机制复杂及临床表现多样,LQT2 的治疗仍面临严峻挑战。近年来,基因编辑及干细胞技术的发展促进了 LQT2 相关研究,特别是人诱导多功能干细胞(hiPSC),为测试新治疗方法及疾病建模提供了良好的工具^[6]。目前,针对 hERG 突变相关机制,利用 hiPSC 等技术的独特优势,不仅能够在体外近似地表达疾病的相关表型^[7-8],还可以将纠正

LQT2 表型的新药转化到临床,并显示了良好的临床适应性^[4]。

2 hERG 通道

I_{Kr} 通道由主要的 α 亚基和辅助性 β 亚基构成, α 亚基由 hERG 编码,是发挥通道作用的主要功能单位,hERG 蛋白含 1 159 个氨基酸,由 6 个跨膜片段以及 N 端 Per-Arnt-Sim(PAS)域和 C 端环状核苷酸结合域(cNBD)组成,4 个 hERG 编码的亚基组成四聚体与辅助亚基共同发挥作用^[2,9]。hERG 基因经核转录、核糖体翻译后,需经内质网(ER)加工进行核心糖基化、折叠及组装,正确折叠的蛋白质将进入高尔基体进一步复合糖基化,合格的蛋白质会被运输到胞膜发挥作用,不合格的蛋白质将会被送回 ER。如果正确折叠仍无法完成,则将滞留在 ER 中,进而引起内质网应激(ERS),导致蛋白进入泛素蛋白酶体系统(UPS)进行降解^[10-12](见图 1)。上述 hERG 蛋白合成及转运过程的各个步骤都需要热休克蛋白(HSP)70/90、钙联蛋白、钙网蛋白、GTP 结合蛋白 Rab11B、高尔基体基质蛋白 GM130 等分子伴侣参与^[13],众多因素如温度、低氧、pH 值、钾浓度都可以影响 hERG 蛋白成熟^[2]。研究显示体内雌激素水平与 QT 间期有关,雌二醇能够通过增强的雌二醇 α 受体介导的 HSP90 相互作用增加 hERG 通道膜转运及复极化电流^[14]。人类 J 蛋白 DNAJB12 和 DNAJB14 通过独立于 HSP70 的机制促进了 Ego 相关基因(ERG) K^+ 通道亚基的四聚体组装,过表达 DNAJB14 可以通过稳定突变的蛋白质改变 hERG 通道功能缺陷,这证实伴侣蛋白对于亚基稳定性和 K^+ 通道的膜定位是必需的^[15]。

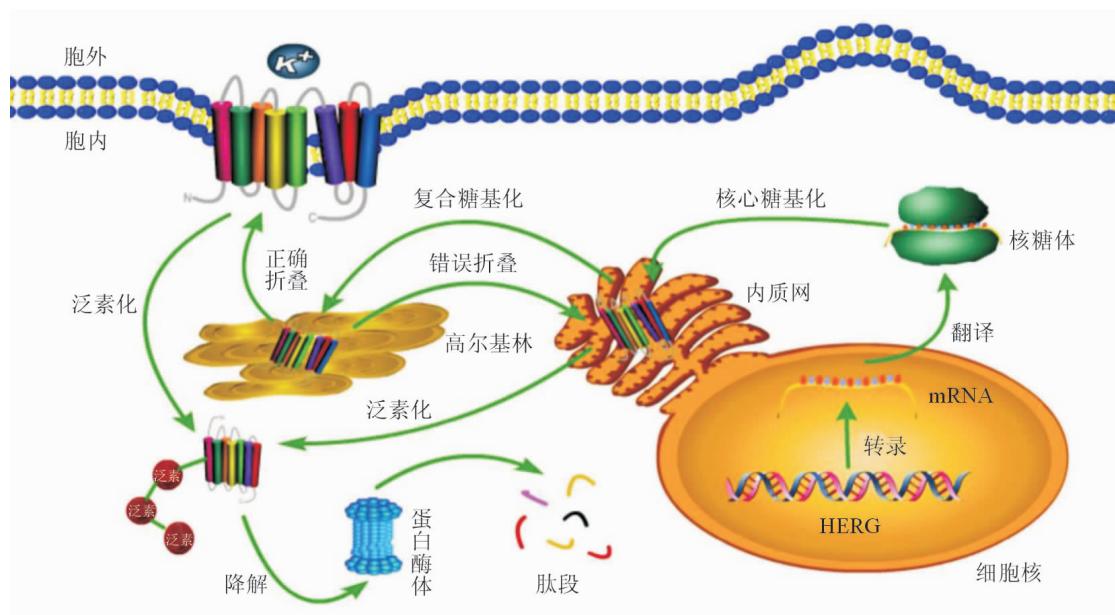


图 1 hERG 蛋白的表达调控

I_{Kr} 电流的减少程度与 hERG 基因突变部位相关。据报道,52%的 hERG 基因突变发生在蛋白胞内区域,30%发生在跨膜区域,12%发生在孔区,6%发生在胞外。其中突变发生在跨膜区及孔区(离子进出)导致的 I_{Kr} 电流减少最严重^[1],该区域也是众多引发获得性长 QT 的药物的作用位点^[16-17]。功能研究表明,约 90%的错义突变通过影响蛋白转运抑制通道功能,这种突变称为 II 类突变;I 类突变影响蛋白的合成与翻译,而 III 类和 IV 类突变则分别通过干扰 hERG 通道门控特性及减少 K^+ 跨膜转运抑制 I_{Kr} 电流^[13,18]。

针对不同类型的突变,增加 I_{Kr} 通道电流的干预策略包括通道激活剂、竞争性通道结合、促进 hERG 蛋白转运、膜定位以及基因编辑等。hERG 蛋白转运缺陷是最主要的发病机制^[19],对这种突变机制的相关研究已经取得一定成果。

3 LQT2 的治疗

LQT2 一般采用 β 受体阻滞剂、交感神经切除等,必要时行 ICD 植入等治疗,对于预防恶性心律失常发生起到一定作用。目前,在比较成功地揭示了相关致病基因导致不同程度 I_{Kr} 减少的前提下,结合基因编辑及 hiPSC 技术,为靶向精准治疗提供了实践可能^[20]。

3.1 hERG 通道变构调节及再转运

hERG 通道的变构调节剂能够与其不同位点结合而改变 I_{Kr} 通道活性,从而起到改变其功能表达的作用。LUF7346 作为一种新型 hERG 变构调节剂,被 Sala 等^[21]证实不同的实验模型中能够逆转先天性和获得性 LQTS 的表型,在阿司咪唑引起的疾

病模型中,应用 LUF7346 解除了药物的钾通道位阻效应,表明在 hERG 基因的 III、IV 类突变时进行 hERG 通道的变构调节似乎是有益的,这也为 LQT2 的治疗带来新的思路。

对于广谱蛋白酶体抑制剂 ALLN,既往的 HEK 细胞模型表明该药物能够改变突变的 hERG 的蛋白表达。Mehta 等^[22]应用 ALLN 处理携带 hERG A561V 错义突变的 hiPSC 分化的心肌细胞,免疫荧光显示 hERG 蛋白膜定位增加,膜片钳显示 I_{Kr} 增强,证实了 ALLN 能够使 hERG 蛋白再转运,进而纠正 LQT2 表型。

囊性纤维化跨膜传导调节因子(CFTR)基因突变是造成囊性纤维化的原因,药物鲁玛卡托(VX-809)作为蛋白质折叠分子伴侣,能够促进突变型 CFTR(F508del-CFTR)蛋白成熟,起到治疗作用^[23-24]。研究显示,纠正 F508del-CFTR 蛋白转运的小分子药物能够通过不同机制对其他突变蛋白转运缺陷起作用^[25]。基于此前提,为了验证鲁玛卡托是否能够纠正 hERG 蛋白转运,Mehta 等^[18]成功应用于干细胞分化的心肌细胞模型证实鲁玛卡托能够纠正 LQT2 的 II 类突变和表型,促进 hERG 成熟,使 I_{Kr} 增加,且显示出较强的异常钙瞬变处理能力,在预防心律失常方面比 β 受体阻滞剂更有效。Schwartz 等^[4]又进一步应用鲁玛卡托 + 依伐卡托治疗了 2 例 LQT2 患者(第 1 天半量,第 2 天起全量鲁玛卡托 800 mg + 依伐卡托 500 mg 至第 8 天),治疗后心电图显示 QT 间期缩短,且治疗过程中患者仅有腹泻的不良反应。

3.2 规律间隔成簇短回文重复序列(CRISPR)/规律间隔成簇短回文重复序列关联蛋白 9(Cas9)、RNA 干扰(RNAi)

CRISPR/Cas9 技术能够对不同生物体进行基因组编辑,通过选择性敲除及导入基因,在基因复制、转录调控等方面起重要作用^[26]。Mesquita 等^[27]将携带 R534C 突变的 LQT2 患者的血单核细胞重编程为 hiPSC,并使用 CRISPR/Cas9 将相同的突变基因插入到对照 hiPSC 系中,结果表明该技术可以纠正或引入相关基因使 hiPSC 分化的心肌细胞表型发生改变,进而控制患者的遗传背景和表观遗传变异性。Chai 等^[28]应用干细胞建立的模型验证了 hERG 基因同种类型的突变可以导致不同的临床表型,他们还用基因测序鉴别出了新的突变体 KCNK17 及 REM2,并使用 CRISPR/Cas9 技术将 REM2 G96A 突变体等位基因校正为野生型,结果动作电位时程和 L 型钙离子电流(I_{CaL})恢复并接近正常水平。Garg 等^[29]利用 CRISPR/Cas9 编辑疾病特异性 hiPSC 分化的心肌细胞基因,通过纠正异常突变体及导入相关突变基因到正常细胞系中,实现了突变基因的敲除与导入,并表现为 LQT2。这种通过基因编辑改变基因型导致不同的效应,对于先天性 LQT2 治疗具有重要意义,但基因编辑改造了基因型,基因编辑是否会引起其他基因的异常突变等问题仍需进一步考虑。

结合 hiPSC, RNAi 也被应用在 LQT2 的研究中, RNAi 能够使同源 mRNA 高效特异性降解,沉默相关基因表达。Matsa 等^[30]用突变特异性小干扰 RNA(siRNA)处理 LQT2 患者来源的 hiPSC 分化的心肌细胞,电生理分析显示 I_{Kr} 电流有所恢复,证实 RNAi 在体外模型中可以发挥基因调控作用,进而纠正 LQT2 表型。

包括 LQT2 在内的多种离子通道病仍有待进一步研究,应用新的研究技术有望推进 LQT2 的治疗。然而,在精准医疗的背景下,研究成果的临床转化也只有在更加成熟地应用上述技术后,才能使疾病处在更加可防、可控的状态下。

参 考 文 献

- [1] Kapplinger JD, Tester DJ, Salisbury BA, et al. Spectrum and prevalence of mutations from the first 2,500 consecutive unrelated patients referred for the FAMILION® long QT syndrome genetic test[J]. Heart Rhythm, 2009, 6(9):1297-1303.
- [2] Zhang KP, Yang BF, Li BX. Translational toxicology and rescue strategies of the hERG Channel dysfunction; biochemical and molecular mechanistic aspects [J]. Acta Pharmacol Sin, 2014, 35(12):1473-1484.
- [3] Schwartz PJ, Ackerman MJ. The long QT syndrome: a transatlantic clinical approach to diagnosis and therapy[J]. Eur Heart J, 2013, 34(40):3109-3116.
- [4] Schwartz PJ, Gnecci M, Dagradi F, et al. From patient-specific induced pluripotent stem cells to clinical translation in long QT syndrome Type 2[J]. Eur Heart J, 2019, 40(23):1832-1836.
- [5] Schwartz PJ, Spazzolini C, Priori SG, et al. Who are the long-QT syndrome patients who receive an implantable cardioverter-defibrillator and what happens to them?: data from the European Long-QT Syndrome Implantable Cardioverter-Defibrillator (LQTS ICD) Registry [J]. Circulation, 2010, 122(13):1272-1282.
- [6] Brandão KO, Viola AT, Douwe EA, et al. Human pluripotent stem cell models of cardiac disease: from mechanisms to therapies[J]. Dis Model Mech, 2017, 10(9):1039-1059.
- [7] Sala L, Gnecci M, Schwartz PJ. Long QT syndrome modelling with cardiomyocytes derived from human-induced pluripotent stem cells[J]. Arrhythm Electrophysiol Rev, 2019, 8(2):105-110.
- [8] Itzhaki I, Maizels L, Huber I, et al. Modelling the long QT syndrome with induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2011, 471(7337):225-229.
- [9] Vandenberg JJ, Perry MD, Perrin MJ, et al. hERG K⁺ channels: structure, function, and clinical significance[J]. Physiol Rev, 2012, 92(3):1393-1478.
- [10] Maattanen P, Gehring K, Bergeron JJ, et al. Protein quality control in the ER: the recognition of misfolded proteins[J]. Semin Cell Dev Biol, 2010, 21(5):500-511.
- [11] Qian W, Groenendyk J, Michalak M. Glycoprotein quality control and endoplasmic reticulum stress[J]. Molecules, 2015, 20(8):13689-13704.
- [12] Hantouche C, Williamson B, Valinsky WC, et al. Bag1 co-chaperone promotes TRC8 E3 ligase-dependent degradation of misfolded human ether a go-go-related gene (hERG) Potassium Channels [J]. J Biol Chem, 2017, 292(6):2287-2300.
- [13] Jennifer LS, Anderson CL, Burgess DE, et al. Molecular pathogenesis of long QT syndrome type 2[J]. J Arrhythm, 2016, 32(5):373-380.
- [14] Anneken L, Baumann S, Vigneault P, et al. Estradiol regulates human QT-interval: acceleration of cardiac repolarization by enhanced KCNH2 membrane trafficking[J]. Eur Heart J, 2016, 37(7):640-650.
- [15] Kai L, Qiang J, Xue B, et al. Tetrameric assembly of K⁺ channels requires ER-located chaperone proteins [J]. Mol Cell, 2017, 65(1):52-65.
- [16] Vandenberg J, Perozo E, Allen TW. Towards a structural channel structure-activity view of drug binding to

- hERG K⁺ channels[J]. Trends Pharmacol Sci, 2017, 38(10):899-907.
- [17] Clancy CE, Kurokawa J, Tateyama M, et al. K⁺ Channel structure-activity relationships and mechanisms of drug-induced QT prolongation[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2003, 43:441-461.
- [18] Mehta A, Ramachandra CA, Singh P, et al. Identification of a targeted and testable antiarrhythmic therapy for long-QT syndrome type 2 using a patient-specific cellular model[J]. Eur Heart J, 2018, 39(16):1446-1455.
- [19] Sanguinetti MC. HERG1 channelopathies[J]. Pflugers Arch, 2010, 460(2):265-276.
- [20] Joseph CW, Garg P, Yoshida Y, et al. Towards precision medicine with human iPSCs for cardiac channelopathies[J]. Circ Res, 2019, 125(6):653-658.
- [21] Sala L, Yu Z, Ward-van Oostwaard D, et al. A new hERG allosteric modulator rescues genetic and drug-induced long-QT syndrome phenotypes in cardiomyocytes from isogenic pairs of patient induced pluripotent stem cells [J]. EMBO Mol Med, 2016, 8(9):1065-1081.
- [22] Mehta A, Sequiera GL, Ramachandra CA, et al. Re-trafficking of hERG reverses long QT syndrome 2 phenotype in human iPS-derived cardiomyocytes [J]. Cardiovasc Res, 2014, 102(3):497-506.
- [23] Goor FV, Hadida S, Grootenhuis PJ, et al. Correction of the F508del-CFTR protein processing defect in vitro by the investigational drug VX-809[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(46):18843-18848.
- [24] Clancy JP, Rowe SM, Accurso FJ, et al. Results of a phase II a study of VX-809, an investigational CFTR corrector compound, in subjects with cystic fibrosis homozygous for the F508del-CFTR mutation[J]. Thorax, 2012, 67(1):12-18.
- [25] Sampson HM, Lam H, Chen PC, et al. Compounds that correct F508del-CFTR trafficking can also correct other protein trafficking diseases: an in vitro study using cell lines [J]. Orphanet J Rare Dis, 2013, 8(1):11.
- [26] Pulecio J, Verma N, Mejía-Ramírez E, et al. CRISPR/Cas9-Based engineering of the epigenome [J]. Cell Stem Cell, 2017, 21(4):431-447.
- [27] Mesquita FCP, Arantes PC, Kasai-Brunswick TH, et al. R534C mutation in hERG causes a trafficking defect in iPSC-derived cardiomyocytes from patients with type 2 long QT syndrome [J]. Sci Rep, 2019, 9(1):19203.
- [28] Chai S, Wan X, Ramirez-Navarro A, et al. Physiological genomics identifies genetic modifiers of long QT syndrome type 2 severity [J]. J Clin Invest, 2018, 128(3):1043-1056.
- [29] Garg P, Oikonomopoulos A, Chen HD, et al. Genome editing of induced pluripotent stem cells to decipher cardiac channelopathy variant[J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 72(1):62-75.
- [30] Matsa E, James ED, Medway C, et al. Allele-specific RNA interference rescues the long-QT syndrome phenotype in human-induced pluripotency stem cell cardiomyocytes [J]. Eur Heart J, 2014, 35(16):1078-1087.

(收稿:2020-02-15 修回:2020-04-06)

(本文编辑:丁媛媛)