

心脏普肯耶纤维 Contactin - 2 与流出道室性心律失常的研究

姜晓慧 吴晓羽

摘 要 contactin - 2 (Cntn - 2) 作为一个新型的特殊心脏传导系统的标志表达在普肯耶纤维中, 而心脏普肯耶纤维 (PFs) 是心脏特殊传导系统的最后分支, 与普通心室肌细胞呈网状相连。由于其组织学的复杂性及独特的电生理特性, 使其在室性心律失常的组织学起源中发挥重要作用。既往有文献指出, 流出道室性心律失常的发生与普肯耶纤维密切相关, 但具体机制有待于进一步研究。本文亦在探讨 PFs 在室性心律失常发生中的作用, 可能会给临床治疗提供新的理论基础。

关键词 流出道室性心律失常 普肯耶纤维 contactin - 2 细胞黏附分子

中图分类号 R5 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.09.047

近来有研究者提出, contactin - 2 可特异性地表达在心脏的传导系统, 包括传导系统末端的普肯耶纤维, 是一群细胞黏附分子免疫球蛋白 (Ig) 的总科, 特异性的与延迟整流 K^+ 通道、 K_{vs} 密切相关。在近 3 个世纪的研究中, 人们对心脏中广泛分布于心内膜下的特殊传导系统, 即普肯耶纤维 (PFs) 的细胞超微结构、兴奋 - 收缩偶联模式及细胞电生理特性已深入了解, 证实了 PFs 与早期后除极 (EAD) 和延迟后除极 (DAD) 相关, 明确了临床上各种室性心律失常发生和维持的心电学基础。随着心脏电生理的研究以及心脏导管射频消融技术的不断发展, 普肯耶纤维在室性心律失常发生中的作用日渐凸显。

一、contactin - 2 在心脏普肯耶纤维的表达及与室性心律失常的关系

1. contactin - 2 的分子结构及分布: 神经细胞黏附分子 contactin - 2, 又称为 TAG - 1 (transient axonal glycoprotein - 1), 首先在大鼠身上发现, axonal - 1 为鸡的同源分子, 人同源分子为 TAX1^[1]。contactin - 2 于 1988 年作为免疫球蛋白超家族中的一员被发现, 在大鼠脊髓发育的过程中, 研究发现一种分子质量为 135kDa 的糖蛋白在脊髓神经元的轴突及顶端生长锥上, 将其命名为 TAG - 1, 1992 年进一步发现其结构, 通过 GPI (glycosyl phosphatidyl inositol) 锚定于细胞膜

外, 有 6 个连续的免疫球蛋白结构域及 4 个连续的纤连蛋白 III 样结构域。在此基础上又发现了一系列类似的铆钉蛋白, 如 BIG - 1、BIG - 2、NB - 2 和 NB - 3, 并将它们归于 contactin 家族且重新命名为 contactin - 1、contactin - 2、TAG - 1/TAX - 1、contactin - 3、contactin - 4、contactin - 5、contactin - 6、NB - 3。TAG - 1 在大鼠中表达, TAX - 1 在人类中表达以及 axonin - 1 在鸡中表达, Cntn - 2 已在中枢神经系统及周围神经系统的有髓神经纤维的细胞膜上表达。

2. contactin - 2 在心脏传导系统及普肯耶纤维的表达: 为证明 contactin - 2 在心脏传导系统中表达, Glenn 等^[2]应用两种独立转基因小鼠: Cntn - 2 - lacZ 及 Cntn - 2 - EGFP, 通过免疫荧光技术检测到 Cntn - 2 - EGFP 小鼠心脏的窦房结 (SAN) 细胞中有 Cntn - 2 的表达, 包括细胞接近窦房结后部的界嵴, 窦房结中央部接近腔静脉的部分, 以及窦房结前部的腔静脉壁。Cntn - 2 及节点标记的 Hcn4 共同表达进一步证实了在窦房结 Hcn4 + 的细胞中有 Cntn - 2 的表达, 同时希氏束/房室结区域显示房室结 Hcn4 + 的细胞中有 Cntn - 2 - EGFP 的表达, 包括希氏束及其分支, connexin - 40 (Cx40) 染色也证实了在左右心室 Cx40 + PCs 有 Cntn - 2 - EGFP 的表达。抗 Cntn - 2 抗体染色证实 EGFP 的报告基因在 Cntn - 2 - EGFP 转基因小鼠的正确表达反应出内源性基因的表达。

3. contactin - 2 与流出道室性心律失常的关系: 由儿茶酚胺介导的流出道室性心律失常是临床上最常见的室性心律失常, 多发生在无器质性心脏病的患者, 主要包括特发性流出道室性心动过速和特发性心

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目 (D201058); 哈尔滨市科技局基金资助项目 (2012RFXXS056)

作者单位: 150001 哈尔滨医科大学附属第一医院心内科

通讯作者: 吴晓羽, 硕士生导师, 主任医师, 教授, 电子信箱: xiaoyu_wu2006@163.com

室颤动。Cerrone 等^[3]通过膜片钳技术研究单个普肯耶细胞,在对 RyR2 基因敲除小鼠身上发现低频起搏及儿茶酚胺刺激诱发的延迟后除极,光学标测可见心外膜的同轴性激动,提示可能为普肯耶纤维的局灶性起源,该项研究可强烈提示普肯耶纤维为流出道室性心动过速患者心律失常的组织学起源。Gong 等^[4]利用 Cntn-2 可以特异性表达在心脏传导系统的 Cntn-2-EGFP 小鼠,应用膜片钳技术及对细胞内钙离子的动力学测量,分析数据显示出与普肯耶细胞的表型相一致。重要的功能性研究提示单独的小鼠普肯耶细胞更倾向于发生自发的细胞内钙释放事件及复极化。这些观察与普肯耶纤维在各种心律失常综合征的起源和维持所发挥的作用相一致,如遗传性疾病(儿茶酚胺介导的多形性室性心动过速、特发性室颤动等);同时分析普肯耶纤维系统复杂的分支结构。但是这些数据还不足以指出 Cntn-2 在心脏传导系统中的特殊作用,而研究结果更相关的解释是普肯耶细胞中 Cntn-2 在与离子通道相关对电生理学特性有重要解释的成人神经元细胞中的作用,而 Cntn-2 与室性心律失常的具体作用机制尚未明确。研究已经证实,在心脏传导系统及末端普肯耶纤维中有 Cntn-2 的表达,在动作电位 2 期复极化的过程中有其特异性可导致 EAD,在起搏频率增快的情况下可出现 DAD,并特异性的与延迟整流 K^+ 通道、 K_{vs} 密切相关。Varro 等^[5]指出,在健康狗心室肌细胞和普肯耶纤维上, I_{ks} 对动作电位复极不起作用,而在动作电位复极末期, I_{kr} 是外向电流的主要来源。因此,当动作电位时程异常增加时,在动作电位复极末期, I_{ks} 在减少室性心律失常的发生中提供了一种重要的安全机制。Light 等^[6]证实在没有激动 β 肾上腺素能受体的情况下, I_{ks} 对 PC 的复极不起任何作用。然而,在激动 β 肾上腺素能受体的情况下, I_{ks} 可以加快 PC 的复极化作用,其可能机制是使 I_{ks} 电流幅度增加,加速 I_{ks} 激活,改变平台期激活电压,说明 I_{ks} 对限制普肯耶纤维动作时程的延长提供一种重要的“限制”效应。由上述讨论可提示普肯耶纤维动作电位的发生与钾离子通道密切相关,同时结合 Cntn-2 与特异性钾离子通道的关系,不免可以得出 Cntn-2 与普肯耶纤维动作电位的发生有其相关性。当交感神经兴奋时普肯耶纤维 I_{kr} 、 I_{ks} 和 I_{kur} 增加,Cntn-2 表达可能上调导致 APD 异质性加大,促发流出道心律失常的发生,但具体机制还有待于进一步研究。同时普肯耶纤维其特有的组织学及细胞电生理学特性,在室性心

律失常的发生及维持中发挥了重要作用。

二、普肯耶纤维的特性

普肯耶纤维于 1839 年由捷克生理学家和病理学家 Purkinje 最早提出,他首先发现在心室肌内膜下存在灰色、扁平的纤维网,内有许多密集细胞核,经研究发现后被定义为心肌细胞^[7]。1906 年,Tawara 发现了心脏的左、右束支(His 束),对普肯耶纤维作为心脏特殊传导系统得以正确描述,并将窦房结、节间束、房室结、希氏束、左右束支与普肯耶纤维统称为心脏特殊传导系统。普肯耶纤维广泛分布于心室肌的心内膜下层,垂直向心外膜延伸,与普通心室肌细胞呈网状相连^[8]。目前研究指出,普肯耶纤维参与了大多数室性心律失常的发生,如左心室特发性室性心动过速、特发性室颤动、长 QT 间期综合征等,且在病理情况下普肯耶纤维更易发生心律失常。随着对普肯耶纤维系统与室性心律失常关系的认识,以普肯耶纤维电冲动指导进行导管射频消融成为治疗室性心律失常的途径。

1. 普肯耶纤维的组织学特性:1968 年 Sommer 等^[9]研究发现普肯耶纤维是一种特殊的心肌细胞,位于心内膜下层,组成心脏传导系统的最后分支。PFs 呈纺锤形,因胞质中存在丰富的线粒体和糖原及肌原纤维少的特点,故在心肌 HE 染色中较普通心室肌淡染,电镜观察 PFs 缺乏 T 小管。普肯耶细胞有较发达的闰盘,可将冲动传递到心室肌各处,引发心室肌的同步收缩。普肯耶纤维可同时表达两种缝隙连接蛋白:(connexin, Cx) Cx40 和 Cx43,而心室肌细胞只表达 Cx43,普肯耶纤维的 Cx40 传导速度为 2 ~ 3m/s,心室肌细胞的 Cx43 传导速度为 0.3 ~ 0.4m/s^[10],这些差异是普肯耶纤维的传导速度明显快于心室肌的主要原因。

2. 普肯耶纤维的心电学特性:在心电学方面,普肯耶纤维作为一种快反应自律细胞与普通心肌细胞存在显著差异。同心室肌细胞相比,其动作电位时程较长,整个动作电位幅度及 0 期最大去极化速度显著高于心室肌细胞。在静息电位时,主要的内向整流 K^+ 通道有 3 种,即 I_{K1} 、 I_{KATP} 、 I_{KACh} ^[11]。普肯耶纤维动作电位的跨膜离子流有:内向整流 K^+ 电流(I_{K1})参与 PFs 动作电位的 2、3 期复极化;延迟整流 K^+ 电流(I_K)主要参与 PFs 动作电位的 2、3 期复极化及 4 期自动去极化;起搏电流,又称进行性增强的内向离子流(I_f),主要由 Na^+ 及少量 K^+ 参与普肯耶纤维的 4 期自动去极化;一过性外向离子流(I_{to})参与 PFs 的 1 期

复极化;ATP 依从性钾电流(I_{kATP})参与心肌缺血时 K^+ 外漏; Ca^{2+} 电流,心脏 PFs 的 T 型和 L 型 Ca^{2+} 通道对心肌的兴奋收缩偶联机制均起作用,而 Ca^{2+} 内流通过 L 型 Ca^{2+} 通道是更有效的信号转导机制。普肯耶纤维由于其细胞膜上 I_{ki} 密度较高,膜对钾离子的通透性较大,所以其最大复极电位更接近钾离子平衡电位,较心室肌细胞静息电位更负,其最大复极电位约为 $-90mV$ 。普肯耶细胞 4 期自动除极的离子机制包括进行性衰减的延迟整流 K^+ 电流及进行性增强的起搏电流(I_f),后者主要由 Na^+ 负荷引起,也有少量的 K^+ 参与,近来有研究指出,部分与 Ca^{2+} 相关。

同时,普肯耶纤维也有其独特的跨膜动作电位:早期后除极(EAD),发生在动作电位复极 2 期和 3 期,药物通过延长动作电位的时间诱发出 EAD,导致 QT 间期延长和尖端扭转型室速的发生^[12]。延迟后除极(DAD)发生在动作电位复极 4 期,物理、化学因素等的刺激可诱发 DAD。有研究证实,应用绿色免疫荧光标记的 Cntn-2(Cntn2-EGFP+)转基因小鼠的普肯耶纤维的动作电位有其 2 期复极化的特点,Cntn2-EGFP+ 的 50% 及 90% 复极化动作电位时程(APD50、APD90)明显延长于 Cntn2-EGFP-,且 Cntn2-EGFP+ 的 2 期复极化可导致 EAD,在起搏频率增快的情况下 Cntn2-EGFP+ 也可出现 DAD,相反,Cntn2-EGFP- 的细胞即无 EAD 也无 DAD^[20]。由上可以得出,普肯耶纤维有其动作电位的特殊性,其跨膜离子流与 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 密切相关。普肯耶纤维的电生理异常可导致冲动传导异常以至心律失常的发生。近年来研究表明,心脏普肯耶纤维的跨膜动作电位及其发生机制——跨膜离子流的异常改变可能导致心律失常的发生。

三、普肯耶纤维与特发性流出道室性心律失常的关系

研究认为普肯耶纤维相关性室性心律失常主要机制包括^[13]:①T 管缺乏导致钙调控异常;②动作电位时程延长后易发生早后除极;③在病理情况下,高钠易发生钠、钙超载,导致触发性室性心律失常;④电适应能力较心室肌细胞强,在快速性室性心动过速发作时动作电位时程和不应期较心室肌短,使普肯耶纤维发生快速电活动。目前认为,特发性流出道室性心律失常由心内膜下局灶的普肯耶纤维自律性异常增高或触发活动引起,部分患者也存在折返机制的可能^[14,15]。左心室流出道的特发性室性心动过速(LIVT)的发生机制为环磷酸腺苷(cAMP)依赖由儿

茶酚胺介导的延迟后除极和触发活动,该类型的室性心动过速对腺苷、维拉帕米和类似交感神经抑制剂均敏感^[16,17],尚有极少数 LIVT 对钙离子拮抗剂无效,但对 β 受体阻滞剂敏感,提示自律性增高可能为其发生机制。右心室流出道特发性室性心动过速(RV-OT-VT)产生的机制与左心室流出道的特发性室性心动过速类似,但延迟后除极与 $Na-Ca$ 交换产生的一过性内向电流有关^[18],这符合普肯耶纤维相关的室性心律失常的发生特点。普肯耶纤维与心肌细胞连接处称普肯耶-心肌交界(purkinje-muscle junction,PMJ)。有记录发现,在 PMJ 处普肯耶纤维通过移行细胞与普通心室肌细胞相连,正常情况下,普肯耶纤维发挥“阀门”功能,阻止较短联律间期的早搏下传及激动回传。当早搏的最短联律间期与“阀门”的有效不应期一致时,将出现在 T 波之后。但是,当上述区域发生异常时就有可能在局部形成“短路”,从而促使折返形成,这是与普肯耶纤维相关的室性心律失常另一研究机制^[19]。上述对普肯耶纤维与室性心律失常发生机制的描述,揭示了普肯耶纤维网在流出道室性心律失常发生中的重要作用,为指导临床药物干预室性心律失常提供新的治疗方法,同时也改变了以往对普通心室肌射频消融的治疗方法,使得消融靶点更精确,减少了对心肌的损失,而射频消融治疗也已成为目前治疗流出道室性心律失常最有效的治疗方法。

五、展 望

研究流出道室性心律失常的发生与普肯耶纤维的关系是当前电生理领域研究的热点问题之一,以普肯耶纤维电位指导作为射频消融治疗的靶点也取得了良好的效果^[20]。研究已经证实作为新型的特异性心脏传导系统的标志物——Cntn-2 可强烈的表达在心脏的传导系统中,包括末梢的普肯耶纤维网,这一发现使心脏传导系统的可视化、分离单个普肯耶细胞以及对它们独特生理特性的描述成为可能。目前也许有许多策略可以解释普肯耶纤维网在心律失常的起源及维持中的发挥的机械性作用。而且,通过类推的方法在神经系统中,笔者可以认为 Cntn-2 可以调节心脏传导系统网的形成以及其组成细胞的兴奋性。Cntn-2 作为新型的心脏传导系统的特异性标志物,为研究普肯耶纤维网与心律失常的关系提供新的理论依据,将为指导临床用药及介入治疗提供新的治疗方法。

(下转第 172 页)

- 15 Nobumoto A, Nagahara K, Oomizu S, *et al.* Galectin - 9 suppresses tumor metastasis by blocking adhesion to endothelium and extracellular matrices[J]. *Glycobiology*, 2008, 18(9): 735 - 744
 - 16 Bi S, Hong PW, Lee B, *et al.* Galectin - 9 binding to cell surface protein disulfide isomerase regulates the redox environment to enhance T - cell migration and HIV entry[J]. *Proc. Natl Acad. Sci*, 2011, 108(26): 10650 - 10655
 - 17 Thijssen VL, Rabinovich GA, Griffioen AW. Vascular galectins: regulators of tumor progression and targets for cancer therapy[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2013, 24(6): 547 - 558
 - 18 Griffioen AW, Thijssen VL. Galectins in tumor angiogenesis[J]. *Ann Transl Med*, 2014, 2(9): 90
 - 19 Glinskii OV, Sud S, Mossine VV, *et al.* Inhibition of prostate cancer bone metastasis by synthetic TF antigen mimic/galectin - 3 inhibitor lactulose - l - leucine[J]. *Neoplasia*, 2012, 14(1): 65 - 73
 - 20 Liu YM, Chen Y, Li JZ, *et al.* Up - regulation of Galectin - 9 in vivo results in immunosuppressive effects and prolongs survival of liver al-lograft in rats[J]. *Immunol Lett*, 2014, 162(11): 217 - 222
 - 21 Saresella M, Piancone F, Marventano I, *et al.* A role for the TIM - 3/GAL - 9/BAT3 pathway in determining the clinical phenotype of multiple sclerosis [J]. *FASEB J*, 2014, 28(11): 5000 - 5009
 - 22 Bellutti Enders F, van Wijk F, Scholman R, *et al.* Correlation of CX-CL10, tumor necrosis factor receptor type II, and galectin 9 with disease activity in juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheumatol* [J]. 2014, 66(8): 2281 - 2289
 - 23 Zhang Y, Jiang L, Zhang M, *et al.* Galectin - 9 induced myeloid suppressor cells expand regulatory T cells in an IL - 10 - dependent manner in CVB3 - induced acute myocarditis[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(3): 3356 - 3372
 - 24 Ashino Y, Chagan - Yasutan H, Egawa S, *et al.* Ebola virus disease: preparedness in Japan[J]. *Disaster Med Public Health Prep*, 2014, 17(11): 1 - 5
- (收稿日期: 2015 - 01 - 19)
(修回日期: 2015 - 02 - 05)

(上接第 168 页)

参考文献

- 1 Yamagata M, Sanes JR. Expanding the Ig superfamily code for laminar specificity in retina: expression and role of contactins[J]. *J Neurosci*, 2012, 32(41): 14402 - 14414
 - 2 Glenn I, Liu FY, Jie Zhang, *et al.* De novo copy number variants identify new genes and loci in isolated sporadic tetralogy of Fallot[J]. *Nat Genet*, 2009, 41(7): 931 - 935
 - 3 Cerrone M, Noujaim SF, Tolkacheva EG, *et al.* Arrhythmogenic mechanisms in a mouse model of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia[J]. *Circ Res*, 2007, 101(2): 1039 - 1048
 - 4 Gong S, Zheng C, Doughty ML, *et al.* A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes. [J]. *Nature*, 2003, 425(2): 917 - 925
 - 5 Varro A, Baláti B. The role of the delayed rectifier component I_{Ks} in dog ventricular muscle and Purkinje fibre repolarization[J]. *physiol*, 2000, 523(1): 67 - 81
 - 6 Light PE, Cordeiro JM, French RJ. Identification and properties of ATP - sensitive potassium channels in myocytes from rabbit Purkinje fibres. [J]. *Cardiovasc Res*, 1999, 44(2): 356 - 369
 - 7 Wirtz S, Schuelke M. Region - specific expression of mitochondrial complex I genes during murine brain development [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18897
 - 8 Silverman ME, Grove D, Upshaw CB. Why does the heart beat? The discovery of the electrical system of the heart [J]. *Circulation*, 2006, 113(23): 2775 - 2781
 - 9 Sommer JR, Johnson EA. Cardiac muscle: A comparative study of Purkinje fibers and ventricular fibers[J]. *J Cell Biol*, 2012, 36(13): 497 - 498
 - 10 Dun W, Boyden PA. The Purkinje cell: 2008 style [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 45(7): 617 - 624
 - 11 Dvir M, Peretz A, Haitin Y, *et al.* Recent molecular insights from mutated I_{Ks} channels in cardiac arrhythmia[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2014, 15(3): 74 - 82
 - 12 Faivre JF, Forest MC, Gout B, *et al.* Effect on early afterdepolarizations and repolarization dispersion[J]. *Eur J Pharmacol*, 1999, 383(2): 215 - 223
 - 13 Pallante BA, Giovannone S, Fangyu L, *et al.* Contactin - 2 expression in the cardiac Purkinje fiber network[J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2010, 3(2): 186 - 194
 - 14 Yokoshiki H, Mitsuyama H, Ueno M, *et al.* Idiopathic reentrant right ventricular outflow tract tachycardia with presystolic potential of central pathway[J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2010, 21(10): 1174 - 1177
 - 15 刘霄燕, 赵英杰, 楚建民, 等. 舒张期电位在右室流出道间隔部起源室性早搏射频消融中的初步认识[J]. *心血管微创医学杂志*, 2012, 1(4): 359 - 364
 - 16 李威, 李毅刚. 浦肯野纤维在室性心律失常发生和维持中的作用及机制[J]. *中华心血管病杂志*, 2011, 39(3): 1068 - 1070
 - 17 Yamada T, Kay GN. Optimal ablation strategies for different types of ventricular tachycardias [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2012, 9(9): 512 - 525
 - 18 Hachiya H, Aonuma K, Yamauchi Y, *et al.* Electrocardiographic characteristic of left ventricular outflow tract tachycardia[J]. *PACE*, 2010(8), 23: 1930 - 1933
 - 19 Scheinman MM. Role of the His - Purkinje system in the genesis of cardiac arrhythmia[J]. *Heart Rhythm*, 2010, 6(7): 1050 - 1058
 - 20 Bloch Thomsen PE, Johannessen A, Jons C, *et al.* The role of local voltage potentials in outflow tract ectopy[J]. *Europace*, 2010, 12(6): 850 - 860.
- (收稿日期: 2015 - 02 - 06)
(修回日期: 2015 - 02 - 15)